

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Hans REUSCHL

1^{re} THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DES RADIATIONS IONISANTES
SUR L'AMIDON. EFFETS DES RADIATIONS GAMMA SUR L'AMIDON DE
POMME DE TERRE EN FONCTION DE SA TENEUR EN EAU

2^e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 15 novembre 1962 devant la Commission d'Examen

MM. CHAMPETIER	Président.
AMIEL	} Examineurs.
RIGAUDY	

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Hans REUSCHL

1^{re} THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DES RADIATIONS IONISANTES
SUR L'AMIDON. EFFETS DES RADIATIONS GAMMA SUR L'AMIDON DE
POMME DE TERRE EN FONCTION DE SA TENEUR EN EAU

2^e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 15 novembre 1962 devant la Commission d'Examen :

MM. CHAMPETIER	<i>Président.</i>
AMIEL	} <i>Examineurs.</i>
RIGAUDY	



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

JULIA G.	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralogie et Cristallogr.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie vég. (Orsay).
AUGER	T	Physique quantique et Relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).
GARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
M ^{lle} COUSIN	T	Biologie animale (SPCN)
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
DRACH	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E. N. S.).
EPHROSSI	T	Génétique.
RIVIÈRE	T	Géologie (SPCN) et Sédim.
GAUTHERET	T	Biologie vég. (PCB).
LUCAS R.	T	Recherches physiques.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire.
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique Enseignement.
SOLEILLET	T	Physique (PCB).
FORTIER	T	Mécanique exp. des Fluides.
PETIT	T	Biologie maritime.
QUENEY	T	Météorologie et Dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (SPCN).
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THIELLER	T	Physique du Globe.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).
PONCIN	T	Mécanique générale.
DUBREIL	T	Arithmétique et Théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CHAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
WIEMANN	T	Chimie organique et struc.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et Physique céleste (Orsay).
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T	Théories physiques.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie et Cristallogr.
MATHIEU J.-P.	T	Physique (Optique).
COUTEAUX	T	Cytologie.
MAY	T	Zoologie (Orsay).
CHIOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay).
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
SCHWARTZ	T	Calcul diff. et intégral.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (Techn. aéronaut.).
BRELOT	T	Calcul diff. et intégral.
NONMANT	T	Synthèse organique.
BENARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
DUCUÉ	T	Statistiques Mathématiques.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiologie végétale.

Doyen..... M. ZAMANSKY.

MARÉCHAL	T	Optique théorique et appl.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
M ^{lle} LE BRETON	T	Physiologie de la nutrition.
LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie.
DEVILLERS	T	Anatomie et Histol. comp.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANÇON	T	Physique (SPCN).
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynamique.
GODEMENT	T	Mathématiques (MPC).
PISOT	T	Tech. mathém. de la Phys.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LENNUIER	T	Physique (MGP).
RIZET	T	Génétique (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
M ^{me} TONNELAT	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques (MPC)
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Électrotechnique génér.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.
M ^{me} HUREL-PY	T	Biologie végétale (PCB).
PIAUX	T	Chimie (MPC).
BRUN	T	Mécan. théorique des Fluides.
LEDERER	T	Chimie biologique (Ors.).
M ^{me} DUBREIL	T	Mathém. (Agrégation).
M ^{me} LELONG	T	Mathém. II (E. N. S.).
BELLAIR	T	Géologie (SPCN).
COTTE	T	Physique électricité
DUBOIS J.-E.	T	Chimie organique.
LAMOTTE	T	Zoologie (E. N. S.).
MICHEL A.	T	Chimie minérale (Orsay)
OLMER	T	Énergétique générale.
ROUAULT	T	Électricité (Orsay).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiologie vég. (Orsay).
CASTAING	T	Physique II Thermod. (Orsay)
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie.
MOYSE	T	Physiologie végét. (Orsay).
NOIROT	T	Évolution des êtres org.
PANNETIER	T	Chimie générale.
POSSOMPES	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TEILLAC	T	Physique nucl. et Radioactivité (Orsay).
TONNELAT	T	Biologie physico-chim
VILLE	T	Économétrie.
WILLEMART	T	Chimie (PCB).
DODE	T	Chimie (Orsay).
FREYMAN	T	Recherches physiques.
GUINCHET	T	Biol. vég. SPCN (Orsay).
ROLLET	T	Chimie minérale.
M ^{lle} JOSIEN	T	Chimie SPCN.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.
ARNOULT	T	Électronique (Orsay).
CHAPELLE	T	Physique (Orsay).
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).
DENY	T	Mathématiques générales (Orsay).
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides.
LUCAS G.	T	Géologie.
ALLARD	T	Chimie physique.
BERTHELOT	T	Phys. des particules fondamentales (Orsay).

BRICART	T	Météorologie et Phys. de l'Atmosphère.	NOZERAN.....	T	Botanique II (Orsay).
M ^{me} ALBE-FESSARD ..	T	Psychophysiologie	BLANC-LAPIERRE	T	Physique E. N. S. (Orsay).
FRIEDEL.....	T	Phys. des Solides (Orsay).	CHEVAUGEON.....	T	Botanique (Orsay).
JULIA M.	T	Études des Moléculaires complexes.	KAHANE	T	Mathématiques (Orsay).
LENDER.....	T	Biol. animale (SPCN) (Orsay).	SAMUEL	T	Mathématiques E. N. S. féminines.
MAGAT	T	Physico-chimie des radio-éléments.	KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay).
M ^{lle} QUINTIN	T	Électrochimie.	THIRY	T	Mécanique céleste.
MONOD	T	Chimie du métabolisme.	ABELES		Physique SPCN.
BENOIT	T	Physiol. anim. (Orsay).	AMAT		Physique PCB.
DE POSSEL	T	Analyse numérique.	AUBOIN		Géologie.
CHARLOT	T	Chimie analytique.	M ^{me} BENOIT-GUEUTAL		Physique Nucl. et radio-activité (Orsay).
LEMÉE	T	Écologie végétale (Orsay).	BOUGIS		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
GUÉRIN		Chimie MPC. (Orsay).	BRUHAT.....	T	Mathématiques MPC.
CHATELET M.	T	Chimie (PCB).	BRUN.....	T	Géologie historique (Orsay).
JEAN.....	T	Physique nucléaire (Orsay)	CHABBAL		Physique MGP (Orsay).
MATTLER	T	Physique (SPCN).	DEHEUVELS	T	Mathématique Prop.
BERGERARD	T	Zoologie (Orsay).	D'ESPAGNAT.....		Physique théorique (Orsay).
BERTEIN.....	T	Electronique (Orsay).	FURON.....		Géologie SPCN.
BOUSSIÈRES		Radiochimie.	M ^{me} GANS	T	Génétique.
M ^{me} COUTURE	T	Thermodynamique et Méc. physique.	GENEVES.....		Biologie végétale PCB.
ELLENBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe.	GUILBERT		Physique (CUS Orléans)
FRANC	T	Biol. animale (PCB).	HUPE.....		Pétrographie.
SCHNELL.....		Botanique tropicale (Orsay).	HOLLANDE	T	Biologie générale.
STOLKOWSKI	T	Physiologie végétale.	LIONS	T	Analyse numérique.
ACHER		Chimie biol. (Orsay).	MAITTE		Chimie PCB.
BAUDOIN		Biologie animale (PCB).	MEYER		Physique propédeutique.
BEAUMONT		Biologie animale (SPCN).	NICOLAS		Géologie appliquée.
BLAMONT.....	T	Géophysique Ionosphère.	PANIGEL.....		Biologie générale.
BOURBEAU.....		Botanique.	RAVIER		Pétrographie.
CURIE D.		Physique (MGP).	ROSEAU.....	T	Mécanique théorique des Fluides.
DURAND-DELGA	T	Géologie.	ROUBINE.....		Electronique.
FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).	SILBER.....	T	Chimie PCB.
HELLER	T	Physiologie végétale.	UEBERSFELD	T	Electronique.
TORTRAT	T	Calcul des Probabilités.	YVON.....	T	Théories Physiques.
CAILLEUX.....		Géologie (SPCN).	HERVÉ	T	Mathématiques.
MAGNAN	T	Physique (SPCN).	NÉRON	T	Mathémat. MPC (Orsay).
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. théor. et à la Phys. nucléaire.	M ^{me} PECKER-WIMEL ..	T	Astrophysique.
M ^{lle} FOURCROY		Biol. végétale (SPCN).	BALKANSKY	T	Physique MCP.
M ^{me} CHOQUET- BRUHAT	T	Mé., analytique et Méc. céleste.	LE CORRE	T	Electricité.
M ^{me} VEIL		Physiologie générale.	DELGROIX	T	Physique théorique (Or.)
LWOFF	T	Microbiologie.	GOURDIN		Phys. Théor. des Hautes Énergies (Orsay).
SIESTRUNCK	T	Mécan. phys. et expérim.	LEHMANN	T	Phys. Exp. des Hautes Énergies (Orsay).
LACOMBE.....	T	Métallurg. des mét. nucl.	NATAF	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
BROCHARD	T	Physique PCB. (Orsay).	ÉCHALIER	T	Biologie animale PCB.
CABANNES		Mécanique générale.	BARRAUD.....		Physiologie cellulaire.
LESIEUR.....	T	Mathém. I (Orsay).	LIORET		Physiologie végét. (Ors.).
MAZET	T	Mécanique générale (Ors).	DARS		Géologie struc. et Géol. appliquée.
CAIRE		Géographie phys. et Géol. dynamique.	CAMEFORT	T	Botanique (agrégation).
COMOLET	T	Mécanique des Fluides.	VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle.
CORABŒUF		Physiologie animale Orsay.	BLAQUIÈRE	T	Electronique (Orsay).
DELOUE.....		Physique de l'exosphère.	ARNOUS	T	Physique théorique.
GORENFLOT.....		Botanique II (Orsay).	TATIBOUET		Chimie (CSU Orléans).
HOUILLON		Biologie animale (PCB).	MALLIAVIN	T	Mathématique propéd. (Orsay).
JULLIEN J.		Chimie SPCN (Orsay).	GAUDEMAR		Chimie Propéd.
MALGRANGE.....	T	Tech. math. de la Phys. (Orsay).	PÉREZ Y JORBA		Phys. Exp. des Hautes Énergies (Orsay).
OLIVIER.....		Anthropologie.	DAVID	T	Chimie (Agrég. Orsay).
			BROUSSE	T	Mécanique théorique.

Secrétaire général R. POUILLAIN

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION
DES RADIATIONS IONISANTES SUR L'AMIDON,
EFFETS DES RADIATIONS GAMMA SUR L'AMIDON
DE POMME DE TERRE EN FONCTION DE SA TENEUR EN EAU**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A Monsieur André GUILBOT,

en hommage de ma gratitude.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

I. — TRAVAUX ANTÉRIEURS

I. — LES PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DE L'AMIDON.

- 11. — *Structure physico-chimique du grain d'amidon.*
- 12. — *Les différents modes de fixation d'eau par le grain d'amidon.*
- 13. — *Structure chimique.*

2. — NOTIONS FONDAMENTALES CONCERNANT LE MODE D'ACTION DES RADIATIONS IONISANTES SUR LA MATIÈRE.

- 21. — *Généralités, définitions.*
- 22. — *Formation des molécules « activées ».*
- 23. — *Réactions chimiques induites.*

3. — EFFETS DE L'ACTION DES RADIATIONS IONISANTES SUR L'AMIDON.

- 31. — *Irradiation à l'état solide.*
- 32. — *Irradiation en solution.*
- 33. — *Résumé critique.*

II. — TRAVAUX PERSONNELS

Idées directrices.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES UTILISÉES.

- 11. — *Préparation et irradiation des échantillons d'amidon.*
- 12. — *Méthodes d'analyse utilisées.*

2 — RÉSULTATS OBTENUS.

- 21. — *Caractérisation globale.*
- 22. — *Étude de la partie macromoléculaire.*
- 23. — *Étude des produits de dégradation à faible poids moléculaire.*

3. — DISCUSSION ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- 31. — *Discussion d'ensemble.*
- 32. — *Confrontation avec les résultats des travaux antérieurs.*
- 33. — *Hypothèses concernant les mécanismes d'intervention de l'eau dans les réactions radiolytiques de l'amidon.*

4. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

AVANT-PROPOS

En me confiant, en juillet 1959, la présente étude relative à l'action des radiations ionisantes sur l'amidon, M. A. GUILBOT, directeur du Laboratoire de Biochimie et Physico-chimie des Céréales, m'a donné l'occasion de poursuivre un travail commencé sous la direction de M. le professeur M. SAMEC, au cours d'un stage effectué à l'Institut Boris KIDRIC, Ljubljana.

Après avoir travaillé pendant trois ans en collaboration amicale sous la direction de M. GUILBOT, c'est une satisfaction pour moi, sinon un plaisir, de lui exprimer toute ma gratitude, pour le temps qu'il m'a consacré, et pour les efforts qu'il s'est imposés en vue de m'inculquer l'esprit clair et précis de ses propres recherches. C'est, en particulier, en corrigeant et en discutant le manuscrit que M. GUILBOT s'est montré infatigable dans la recherche de la précision et de la clarté ; je dois ajouter d'ailleurs que ce n'est qu'après être passé entre ses mains que le texte est devenu français en même temps que plus clair.

Je remercie vivement M. le professeur G. CHAMPETIER, Membre de l'Institut, d'avoir bien voulu accepter la présidence du Jury et de m'avoir prodigué de précieux conseils.

Mes remerciements vont aussi à MM. les professeurs AMIEL et RIGAUDY qui ont bien voulu accepter de juger ce travail.

Je voudrais également adresser ma reconnaissance à M. le professeur SAMEC qui m'a initié à l'étude de l'amidon et qui a témoigné un vif intérêt pour ce travail.

J'exprime mes remerciements à M. PETIT, maître de Recherches à l'INRA, à M. DRAPRON, ingénieur du Conservatoire national des Arts et Métiers, pour les discussions qu'ils m'ont accordées et leurs précieuses suggestions, ainsi qu'à tout le personnel du Laboratoire pour son amicale collaboration.

Enfin, je ne voudrais pas manquer d'exprimer ma gratitude envers l'Institut national de la Recherche agronomique pour la subvention que cet organisme a bien voulu m'attribuer.

INTRODUCTION

Ces dernières années, à la suite de la réalisation de puissants générateurs de radiations ionisantes, les recherches concernant l'action de telles radiations sur la matière se sont particulièrement développées.

L'investigation des processus de transformations physiques et chimiques du matériel irradié, transformations prenant naissance dans l'activation de la couche électronique des molécules et conduisant à des ruptures de liaisons, à des réarrangements intramoléculaires, à des transferts intermoléculaires de l'énergie d'activation, permettra de contribuer à la connaissance de la structure fine des molécules ainsi que de la structure supramoléculaire du matériel irradié. La chimie des radiations constitue ainsi un chapitre important de la chimie théorique.

L'utilisation de l'énergie rayonnante en technologie chimique s'est montrée intéressante dans divers domaines. Contrairement à la plupart des réactions chimiques habituelles procédant par chocs thermiques entre les molécules du milieu réactionnel, qui doit par conséquent être plus ou moins fluide, le « bombardement » de la matière par les particules des radiations ionisantes permet :

- de provoquer des réactions à l'état solide ;
- de localiser les effets, dans un mélange de substances solides, en fonction de la sensibilité des constituants.

En outre, le haut degré d'activation atteint par les molécules offre les possibilités :

- de synthétiser des corps nouveaux, inaccessibles par d'autres voies ;
- de remplacer des synthèses « classiques » procédant par étapes, par la synthèse « directe ».

Dans le domaine des synthèses organiques, l'utilisation des radiations ionisantes se trouve limitée du fait que l'irradiation de la plupart des composés fournit un mélange très complexe de produits. Cependant, dans certains cas, les mécanismes de réactions sont tels, ou peuvent être dirigés par un choix convenable de conditions opératoires de telle façon, que la formation d'un seul produit soit favorisée. Parmi les synthèses radiochimiques exploitées industriellement, surtout aux États-Unis, citons les synthèses :

- du phénol, à partir du benzène, de l'eau et de l'oxygène ;
- du lindane, à partir du benzène et du chlore ;
- de l'éthylèneglycol, à partir du méthanol ;
- de l'aniline, à partir du benzène et de l'ammoniac.

L'induction de la polymérisation par l'irradiation de certains composés, en particulier les composés vinyliques, $\text{CH}_2 = \text{CHR}$, ($\text{R} = \text{H}, \text{Cl}, \text{CN}$) est exploitée

dans la fabrication de nombreux polymères. La polymérisation est induite par un petit nombre de radicaux ou de molécules ionisées dont les réactions avec des molécules neutres se propagent en chaîne ; le rendement énergétique des polymérisations radiochimiques est ainsi très élevé.

L'irradiation des polymères permet, à l'état solide, de modifier profondément leurs propriétés physiques, en produisant suivant la structure du monomère, soit une dégradation, soit une réticulation des chaînes macromoléculaires. Comme exemples d'application industrielle, citons :

- la réticulation du polyéthylène commercial, produit semi-cristallin dont le point de ramollissement se situe entre 70 et 115°C, qui fournit un produit transparent ne fondant qu'à une température supérieure à 300°C ;

- la réticulation du caoutchouc naturel, qui, pour la fabrication de certaines qualités de caoutchouc, remplace la vulcanisation par le soufre ;

- la dégradation du dextrane, qui permet d'obtenir des produits de remplacement du plasma sanguin, le procédé radiochimique se substituant à l'hydrolyse acide.

Enfin, de nombreux laboratoires étudient actuellement les possibilités d'utiliser les radiations ionisantes dans la stérilisation des aliments.

L'action des radiations ionisantes sur l'amidon, objet de notre travail, a déjà fait l'objet d'investigations par plusieurs auteurs. D'un point de vue pratique, ces travaux permettront de connaître les altérations qui risquent de se produire au cours de l'irradiation des aliments amylacés, tout en indiquant les possibilités de modifier les propriétés physiques et chimiques d'une matière première industrielle importante.

Sur le plan théorique, il nous semble, en particulier, intéressant de connaître l'influence de la structure supramoléculaire de l'amidon à l'égard des réactions radiochimiques des chaînes polyosidiques, problème qui n'a pas été abordé dans les travaux effectués jusqu'à présent. Comme l'ont montré plusieurs méthodes d'investigation, dont nous rappellerons les résultats, les caractéristiques de cette structure physicochimique de l'amidon sont fonction de sa teneur en eau.

C'est pourquoi, tout en essayant de compléter et de préciser les résultats des travaux antérieurs sur l'action des radiations ionisantes sur l'amidon, nous nous sommes proposés d'étudier les effets induits en fonction de la teneur en eau.

I. — TRAVAUX ANTÉRIEURS

Dans un premier chapitre, nous exposerons les principales caractéristiques de la structure physicochimique et chimique du grain d'amidon en insistant en particulier sur les différents modes de fixation de l'eau mis en évidence par plusieurs méthodes d'investigation.

Dans le second chapitre, nous indiquerons les principes essentiels de la théorie de la chimie des radiations tout en mettant l'accent sur les aspects particuliers de l'irradiation des polymères.

Dans le troisième chapitre, nous examinerons les travaux déjà effectués sur l'irradiation de l'amidon.

1. — Les principales caractéristiques de l'amidon (GREENWOD, 1956 ; BADENHUIZEN, 1958 ; WHELAN, 1958)

De nombreuses mises au point ont été publiées sur l'aspect physicochimique et chimique de la structure de l'amidon ; nous nous bornerons à en rappeler les principales caractéristiques dans la mesure où cela nous paraîtra nécessaire pour l'interprétation des résultats de notre travail.

II. — *Structure physicochimique du grain d'amidon*

Produit secondaire de la photosynthèse, l'amidon constitue la substance de réserve la plus importante de la plante ; on le trouve principalement dans les grains, les tubercules ou les racines sous forme d'éléments figurés : les grains d'amidon.

A l'examen microscopique, le grain d'amidon apparaît généralement comme formé de couches distribuées autour du « hile » qui, en lumière polarisée constitue le point d'intersection d'une croix noire sur le fond clair du grain. A la suite d'études récentes au microscope électronique, GUILBOT et LEVASSEUR (1959) ont conclu que le grain d'amidon était très probablement constitué d'enveloppes superposées entre lesquelles se trouverait un réseau d'alvéoles contenant des granules, certains éléments constitutifs présentant une structure spiralée.

Les diagrammes de diffraction des rayons X sont, pour des amidons de même teneur en eau, caractéristiques de leur origine botanique et, récemment, LEGRAND et YOVANOVITCH (1957) ont précisé que ces diagrammes pouvaient être classés en deux groupes essentiels seulement : spectre A, type amidon de céréales ; spectre B, type amidon de tubercules. Cependant, en fonction de la teneur en eau de l'amidon, ces spectres subissent une évolution constante : apparition de nouvelles raies, augmentation de l'intensité de raies déjà présentes. L'eau apparaît ainsi comme un constituant principal de la structure physicochimique du grain d'amidon : séché, il présente un spectre correspondant à un état pratiquement amorphe ; pour obtenir le développement plus ou moins complet d'une structure organisée, une teneur en eau d'environ 14 p. 100 pour les amidons de céréales et 19 p. 100 pour la fécule de pomme de terre est nécessaire. A cette humidité optimum, le grain d'amidon est considéré comme constitué de régions amorphes et de régions organisées, appelées « cristal-

lites » ; ceux-ci résulteraient de l'apposition de segments des macromolécules constituant l'amidon, l'attraction étant assurée principalement par des liaisons « hydrogène » entre les groupements OH des macromolécules avec participation ou non de molécules d'eau. D'après des travaux récents (ZOBEL et SENTI, 1960), les zones cristallines représenteraient 25 p. 100 de l'ensemble du grain dans le cas de l'amidon de pomme de terre et 30 à 40 p. 100 dans le cas de l'amidon des céréales.

12. — Les différents modes de fixation de l'eau par le grain d'amidon

Dans une atmosphère saturée d'eau à température ordinaire, l'amidon de pomme de terre fixe environ 33 p. 100 d'eau⁽¹⁾. Cette grande affinité de l'amidon pour l'eau résulte des forces d'attraction de caractère dipolaire entre les nombreux groupements OH présents sur les chaînes polysidiques et les molécules d'eau. Le fait que de telles quantités d'eau ne se congèlent qu'à des températures en dessous de -180°C montre l'importance des forces de fixation, forces qui sont par conséquent nettement supérieures à celles qu'exercent les molécules d'eau entre elles pour former de la glace.

Des méthodes d'investigation appropriées ont permis d'approfondir nos connaissances sur l'état de fixation de l'eau dans le grain d'amidon.

Méthode de sorption (GUILBOT et DRAPRON, 1950-57).

Expérimentalement, la méthode consiste à déterminer à une température donnée la quantité d'eau fixée par l'amidon, en fonction de la tension de vapeur d'eau relative de l'atmosphère environnante ; cette tension représentant, par définition, l'activité de l'eau dans le système.

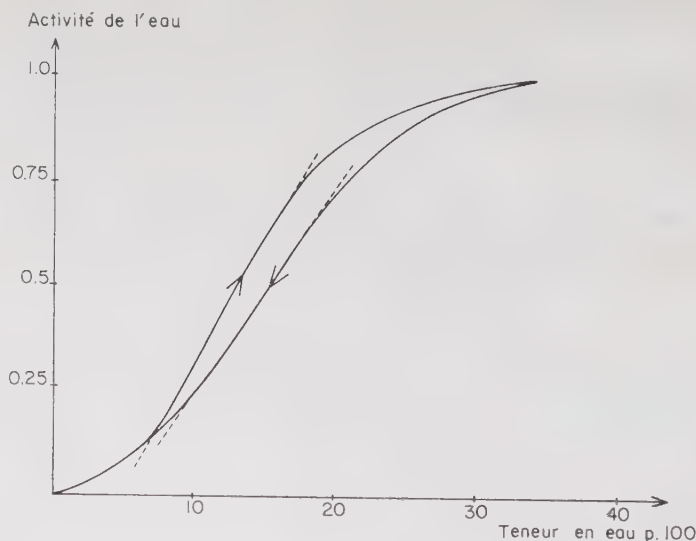


FIG. 1. — Isotherme à 20°C de l'activité de l'eau, dans le système amidon-eau, en fonction de la teneur en eau

L'activité de l'eau dans l'amidon, graphiquement reliée à sa teneur en eau, évolue suivant une courbe en S ; mesurée par hydratation (adsorption) ou par déshydratation (désorption), l'activité est différente pour une même teneur en eau : on obtient ainsi deux courbes, la courbe d'adsorption et celle de désorption qui se rejoignent à l'origine (tension de vapeur d'eau relative 0 p. 100) et à l'activité = 1 (tension de vapeur d'eau relative 100 p. 100), témoignant d'un phénomène d'hystérésis (fig. 1).

Ces courbes sont interprétées comme décrivant plusieurs phénomènes qui se succèdent en se

(1) Les pourcentages d'eau indiqués sont rapportés à la substance humide.

superposant. Dans la première partie de la courbe, l'activité de l'eau ne se développe que tardivement : l'adsorption s'effectue sur les points actifs, les forces de fixation de l'eau à l'amidon sont importantes. A partir d'une certaine teneur en eau, l'activité croît linéairement avec celle-ci. Dans cette partie de la courbe, la fixation de l'eau obéit à la loi de HENRY ; l'amidon « dissout » l'eau en formant une solution solide.

Dans le troisième domaine d'hydratation, l'activité s'accroît de nouveau lentement et tend asymptotiquement vers 1 : une nouvelle « phase aqueuse » apparaît, l'eau est fixée par des forces plus faibles, soit de nature capillaire, soit de nature osmotique. La teneur en eau, correspondant à l'activité 1 de l'eau « libre », est voisine de 33 p. 100.

Les teneurs en eau qui délimitent la croissance linéaire de l'activité semblent marquer l'apparition d'états particuliers de fixation de l'eau. Pour l'amidon de pomme de terre, les teneurs en eau correspondantes sont, en adsorption d'environ 8 et 14 p. 100, en désorption d'environ 9,5 et 16,5 p. 100.

Méthode aux rayons X.

Une étude systématique de l'évolution des spectres de diffraction des rayons X par l'amidon en fonction de sa teneur en eau a dernièrement été effectuée par GUILBOT et coll. (1961). Ce travail fait ressortir que certaines teneurs en eau marquent des étapes dans le processus de l'organisation de la structure de l'amidon. Les résultats obtenus pour l'amidon de pomme de terre, hydraté en sorption, sont les suivants :

- dans les amidons peu hydratés, deux raies principales à $11^{\circ}25'$ et $11^{\circ}56'$ apparaissent, s'intensifient pour atteindre un maximum à une teneur en eau voisine de 8 p. 100 ;

- pour une teneur en eau d'environ 14 p. 100, une nouvelle raie apparaît à $2^{\circ}45'$, elle correspond à une équidistance de 16,1 Å et serait, selon plusieurs auteurs, attribuable à une des dimensions d'une maille quadratique ;

- pour des hydratations plus importantes, on constate un affinement progressif des raies présentes.

Ces teneurs en eau remarquables d'environ 8 et 14 p. 100 sont en bon accord avec les points d'hydratation singuliers mis en évidence sur la courbe de sorption. Pour des amidons en désorption, il est vraisemblable que ces chiffres auraient été un peu plus élevés.

Déshydratation par chauffage aux infrarouges.

Élaborée par ULMANN (1959), la méthode met à profit la différence de vitesse d'évaporation de l'eau en fonction de son état de fixation au substrat.

Le produit à déshydrater est soumis, dans des conditions définies, à un rayonnement assurant un chauffage uniforme. La vitesse de séchage est portée en fonction de la teneur en eau correspondante du produit.

L'allure de la courbe de déshydratation de l'amidon de pomme de terre ainsi obtenue permet de constater :

- a) une diminution progressive de la vitesse de déshydratation : la fixation de l'eau devient de plus en plus forte au fur et à mesure que l'amidon se déshydrate ;

- b) deux discontinuités correspondant à des teneurs en eau de 33 ± 1 p. 100 et $10,5 \pm 0,5$ p. 100, cette deuxième discontinuité étant beaucoup plus marquée que la première.

Ces résultats indiquent que les forces d'attraction fixant les premiers 10 p. 100 d'eau de l'amidon sont plus importantes que celles intervenant au cours d'une hydratation ultérieure. Ils permettent également de différencier le point d'hydratation de 33 p. 100, à partir duquel l'amidon de pomme de terre ne fixe plus d'eau en phase vapeur, et qui peut être considéré comme le point de transition entre l'eau de sorption et l'eau « libre ».

Hydratation en solution saline. (CHAMPETIER et YOVANOVITCH, 1952 ; YOVANOVITCH, 1955).

La méthode des « restes » de SHRINEMAKERS a été appliquée par CHAMPETIER et coll. à l'étude des phénomènes d'adsorption dans les systèmes ternaires constitués de polyholoside (cellulose ou amidons) de divers sels et d'eau.

Elle est basée sur l'analyse du polymère, plus ou moins essoré, après avoir été en contact avec des solutions salines aqueuses de diverses concentrations. Pour une concentration de sel donnée, la courbe représentant les teneurs en sel, en fonction des teneurs en eau, d'une série de prises d'essais essorées de façon à avoir des quantités variables de liquide restant, est une droite ; en faisant varier la concentration, on obtient un faisceau de droites. La convergence de ces droites en un point indique une certaine relation entre la fixation de l'eau et du sel par la macromolécule.

L'analyse, par la méthode des restes, de l'amidon de maïs et de pomme de terre mis en contact avec des solutions de thiosulfate de sodium de concentrations variables, a permis de mettre en évidence un « monohydrate » $(C_6H_{10}O_5, H_2O)_n$ pour l'amidon de maïs ; un « mono- » et un « dihydrate » pour l'amidon de pomme de terre ; les teneurs en eau de ces hydrates exprimées en p. 100 de substance humide sont respectivement 10 et 18,2 p. 100. L'existence du « monohydrate » de l'amidon de maïs a été observée pour des concentrations en sel entre 6 et 280 g de thiosulfate de sodium par litre. Le « dihydrate » de l'amidon de pomme de terre est stable pour des concentrations en sel entre 6 et 100 g/l : à partir de cette concentration, il se décompose assez brusquement pour donner place au « monohydrate » dont la stabilité a été observée jusqu'à une concentration de 400 g de $Na_2S_2O_3/l$.

Conclusions.

Les résultats des méthodes d'investigation citées, qui pourraient être complétés par ceux fournis par la détermination de la chaleur d'hydratation et par les mesures diélectriques, qui permettent d'apprécier l'énergie d'activation des groupements OH en fonction de l'hydratation (GUILBOT, résultats inédits ; GUILBOT et *coll.*, 1960), suffisent pour conclure que, dans l'amidon, l'eau est soumise à plusieurs types de forces d'attraction.

Bien que ces méthodes mettent en œuvre des principes très différents, elles s'accordent généralement pour mettre en évidence certaines étapes dans le processus d'hydratation.

Pour l'amidon de pomme de terre, ces teneurs en eau singulières sont de :

a) 8-10 p. 100 correspondant :

- à la fin de l'adsorption ou de la désorption rapide ;
- à la fin de l'élaboration d'une certaine organisation de structure ;
- à une diminution brusque de la vitesse de déshydratation ;
- à la formation d'un « monohydrate ».

b) 16,5 à 18,2 p. 100 correspondant :

- au début de la sorption linéaire ;
- à la formation d'un « dihydrate » ;

c) 33 p. 100 correspondant :

- à la limite supérieure de sorption d'eau en phase vapeur ;
- à une diminution brusque de la vitesse de déshydratation ;
- à l'apparition de l'eau facilement congelable au voisinage de 0°C.

13. — Constitution chimique de l'amidon

Les indications sur la structure chimique et les caractéristiques physicochimiques des macromolécules de l'amidon sont obtenues à partir de l'étude de leurs solutions. Or, en raison de sa structure organisée, le grain d'amidon exige, pour la solubilisation de ses constituants, des traitements tels que le chauffage dans l'eau à 120°C pendant une demi-heure, ou la dispersion dans la soude 1 N, qui risquent de modifier leur structure chimique.

Dans une dispersion aqueuse d'amidon, deux composants peuvent être séparés grâce à leur comportement différent vis-à-vis du butanol : l'un, l'amylose, formant un complexe insoluble, l'autre, l'amylopectine, restant en solution. Ces deux fractions sont également mises en évidence par analyse chromatographique d'une solution d'amidon sur une colonne d'alumine : après révélation de la

colonne à l'aide d'une solution d'iode, deux zones, l'une colorée en bleu, l'autre en violacé, apparaissent, nettement séparées par une zone non colorée.

Tous deux polymères du glucose, les composants de l'amidon se distinguent par leur constitution macromoléculaire ; les macromolécules de l'amylose constituent des chaînes droites déterminées par des liaisons glucosidiques α -1,4 entre les unités glucose, tandis que les macromolécules de l'amylopectine sont ramifiées, des chaînes de glucoses reliés en α -1,4 se greffant les unes aux autres par des liaisons glucosidiques α -1,6.

Le degré de ramification de l'amylopectine, défini par le nombre de liaisons-1,6 pour 100 unités glucose a été déterminé par des analyses structurales basées sur la méthylation et l'oxydation périodique ; les valeurs, pour l'amylopectine de l'amidon de pomme de terre, sont les suivantes : 4,1 p. 100 par méthylation, 3,8 p. 100 par oxydation périodique.

Les macromolécules de l'amylose en solution sont considérées comme enroulées suivant une spirale à l'intérieur de laquelle certains agents, tels que le butanol et l'iode, peuvent s'insérer, pour former des complexes insolubles, l'amylopectine ne présentant pas cette propriété.

La quantité d'iode fixée par l'amylose peut être déterminée par potentiométrie. Dans les conditions de ce dosage, l'amylose absorbe de 18 à 20 p. 100 d'iode suivant son origine. Comme l'absorption par l'amylopectine est négligeable, le dosage de la quantité d'iode absorbée par un amidon permet de déterminer sa teneur en amylose. Les différents amidons contiennent des quantités d'amylose allant de 0, pour l'amidon de maïs creux, à 77 p. 100, pour l'amidon de pois ridé ; l'amidon de pomme de terre a une teneur en amylose de 20 à 22 p. 100.

Le degré de polymérisation (DP) des deux constituants de l'amidon, notamment celui de l'amylopectine, est encore matière à discussion.

Pour les constituants de l'amidon de pomme de terre, les valeurs suivantes ont été obtenues par plusieurs auteurs à l'aide de différentes méthodes physiques :

	Dérivé	Méthode (1)	DP
Amylose	non substitué	O	1 000
	triacétate	O	3 800
	—	S et D	240
Amylopectine	non substitué	S et D	6 000
	—	L	220 000
	triacétate	L	230 000
	—	O	2 000

(1) O = Osmométrie.

S et D = Sédimentation et diffusion.

L = Diffusion de la lumière.

Les écarts entre ces valeurs sont dus, d'une part à la préparation même des fractions donnant lieu à des dégradations plus ou moins importantes suivant la technique utilisée, d'autre part aux erreurs systématiques de la méthode de mesure.

Il a été démontré que la dissolution du grain d'amidon dans l'eau bouillante en présence d'oxygène et dans la soude provoque une diminution du poids moléculaire de ses constituants. L'acétylation du grain d'amidon en milieu pyridine suivie d'un fractionnement des constituants acétylés par différence de solubilité dans le chloroforme, est considérée comme constituant la méthode de préparation la plus douce. Les solutions des produits acétylés dans des solvants organiques évitant dans une large mesure des interactions électrostatiques entre solutions et solutés, se prêtent mieux à la mesure du DP que les solutions aqueuses des constituants non substitués.

Tandis que pour l'amylose, les valeurs de DP obtenues sont au moins du même ordre de grandeur, celles de l'amylopectine varient dans des proportions de 1 à 40 ou 100 environ. Certains auteurs attribuant les DP élevés mesurés par diffusion de la lumière à la présence d'agréats de macromolécules (molates), l'ordre de grandeur du DP de l'amylopectine reste jusqu'à présent incertain.

2. — Notions fondamentales concernant le mode d'action des radiations ionisantes sur la matière

L'étude de l'action des radiations ionisantes n'a pas encore abouti, jusqu'à présent, à une théorie cohérente reliant les effets observés à la structure des substances irradiées. Dans le but d'exposer les notions fondamentales et les résultats d'ordre général de ce domaine de recherches, nous avons consulté les ouvrages des auteurs suivants : HAISSINSKY (1957) ; LEFORT (1959) ; CHARLESBY (1960) ; DEROSIER et ROSENSTOCK (1960).

21. — Généralités, définitions

Le terme « radiation ionisante » désigne un rayonnement de particules à haute énergie capable de provoquer l'ionisation d'atomes ou de molécules en traversant la matière.

Des radiations ionisantes sont formées, soit par des éléments radioactifs, émettant des particules — électrons, protons, neutrons et photons — soit par des générateurs à haute puissance électrique. Un rayonnement à particules données est caractérisé par l'énergie cinétique de celles-ci mesurée en MeV (méga-électron-volt) et par la proportion d'entre elles qui traverse l'unité de surface dans l'unité de temps ; dans le cas des éléments radioactifs, cette quantité de particules est liée à leur activité mesurée en Curies, représentant le nombre de désintégrations par seconde.

L'énergie des radiations ionisantes cédée au système irradié, qui se manifeste par des changements physiques et chimiques, constitue la « dose » d'énergie.

Le « röntgen » (r) représente la première unité de dose ; elle est définie pour les radiations gamma et X. Sa définition est basée sur la mesure, dans la chambre à gaz, du nombre d'ions formés lors de l'irradiation de l'air.

Définition : L'irradiation d'un g d'air sec par 1 r de radiations gamma ou X produit $1,6 \cdot 10^{13}$ ions des deux signes. En admettant que l'énergie nécessaire pour la formation d'une paire d'ions dans l'air est de l'ordre de 34,5 eV, la formation de $1,6 \cdot 10^{13}$ paires d'ions est équivalente à l'absorption de $5,45 \cdot 10^{13}$ eV. Un eV étant égal à $1,6 \cdot 10^{-12}$ erg, l'énergie absorbée par 1 g d'air, par irradiation à une dose d'un röntgen est d'environ 87 ergs.

La définition du röntgen se rapporte à un flux déterminé de rayonnement X ou gamma. Elle ne tient pas compte de l'énergie effectivement absorbée dans le système irradié qui, pour la même intensité du flux de rayonnement, varie avec la nature du rayonnement et les caractéristiques du système irradié. C'est ainsi que l'irradiation gamma de 1 g d'eau à une dose d'un r correspond à une absorption d'énergie de 97,4 ergs au lieu de 87 ergs dans le cas de l'air.

Pour éviter ces difficultés et rendre l'unité de dose indépendante de la nature du rayonnement et du système à irradier, on a défini une nouvelle unité, le rad, qui se rapporte à la quantité d'énergie absorbée :

1 rad est équivalent à l'absorption de 100 ergs par g de matière irradiée. Dans le cas de radiations gamma et X, les unités r et rad sont équivalentes, à un facteur près, variable avec la substance irradiée : ainsi pour l'air, 1 rad équivaut à $\frac{100}{87}$ r et pour l'eau, à $\frac{100}{97,4}$ r.

Pour la plupart des produits chimiques, l'énergie effectivement absorbée ne peut être déterminée de façon précise, en raison de la complexité des processus dans lesquels cette énergie est consommée. Il est cependant généralement admis que, dans des limites assez étroites, les substances organiques, pour des conditions d'irradiation égales, absorbent la même quantité d'énergie que l'eau.

L'évaluation de l'énergie absorbée est possible pour des substances dans lesquelles les radiations

produisent un effet physique ou chimique déterminé. Ces substances peuvent être utilisées en pratique pour la mesure de la « dose » de radiation ; c'est le cas de la dosimétrie au sulfate ferreux par exemple.

22. — Formation des molécules activées

Étant donné la place très réduite du noyau et des électrons par rapport à l'espace vide, la probabilité pour que les particules « ionisantes » entrent en collision avec ceux-ci ne devient importante que pour des faisceaux extrêmement intenses, ou pour des irradiations de très longue durée dans le cas d'un rayonnement moins intense. La collision d'une particule « ionisante », animée d'une vitesse suffisante, avec un noyau, induit la désintégration radioactive de celui-ci, phénomène qu'on cherche à éviter en chimie des radiations. L'interaction des particules ionisantes chargées avec le champ électrique du noyau, telle qu'on l'observe pour des faisceaux d'électrons intenses, ne concerne principalement que le changement des caractéristiques du faisceau, l'énergie consommée étant réémise sous forme d'un rayonnement électromagnétique sans induire des modifications chimiques.

L'interaction de particules ionisantes chargées avec le champ électrique de la couche électronique d'une molécule rencontrée constitue le mode d'action de loin le plus probable, étant donné l'importance que représente cette couche dans l'espace moléculaire. C'est principalement ce mode d'interaction qui est à l'origine des modifications chimiques induites par les radiations ionisantes.

Tandis que les radiations à particules chargées — les radiations alpha et bêta — agissent par voie directe, l'action des radiations à particules neutres — gamma et neutrons — s'effectue essentiellement par l'intermédiaire des particules chargées qu'elles ont initialement libérées par des chocs sur les électrons ou le noyau des molécules irradiées. Les photons des radiations gamma, dont la « masse » est comparable à celle de l'électron, libèrent des électrons tandis que les neutrons agissent sur les noyaux d'où ils éjectent des particules chargées telles que protons et particules alpha. Les particules chargées ainsi libérées sont animées d'une grande énergie cinétique, comparable à celle de la particule neutre primaire. Par interaction avec le champ de la couche électronique des molécules rencontrées, elles donnent naissance à un nombre élevé d'autres particules chargées devant lequel le nombre de chocs primaires est négligeable.

Lors du passage d'une particule chargée dans le champ électrique de la couche électronique d'une molécule, une interaction mutuelle a lieu qui conduit, d'une part à l'augmentation de l'énergie potentielle des électrons, c'est-à-dire à l'activation de la molécule, d'autre part, à une perte d'énergie cinétique de la particule agissante, qui se trouve ralentie et déviée dans son parcours.

L'état d'activation atteint par la molécule dépendra, pour une particule incidente donnée, de son énergie cinétique et de la profondeur à laquelle elle pénètre dans la couche électronique. Le long du parcours du rayon incident, il se formera ainsi soit des molécules ionisées, un électron ayant été libéré, qui peut à son tour « activer » d'autres molécules, soit des molécules excitées, lorsque l'énergie acquise par la molécule est plus petite que l'énergie minimum de liaison d'un électron.

La formation d'une paire d'ions par irradiation exige en moyenne une énergie d'environ 34 eV ; la valeur trouvée à l'aide de calculs théoriques et des mesures varie peu avec la nature de la substance irradiée. Comme l'énergie nécessaire pour ioniser une molécule ou un atome est de l'ordre de 10-15 eV, la différence, 20-24 eV est consommée dans l'excitation des molécules.

Les molécules activées ont une durée de vie extrêmement courte ; leur désactivation donne naissance aux modifications chimiques du milieu irradié.

23. — Réactions chimiques induites

Mécanismes généraux de réactions.

L'irradiation d'un composé induit, en général, plusieurs réactions consécutives ou simultanées qui se produisent avec une grande rapidité et qui conduisent à la formation d'une grande variété de produits. L'interprétation rigoureuse et complète du mode de formation des composés obtenus est ainsi rendue très difficile.

L'énergie acquise par une molécule lors de son interaction avec une particule chargée, ionisante, augmente l'énergie de vibration des liaisons et conduit finalement à la rupture de certaines d'entre elles.

Pour une molécule affectée d'une énergie d'excitation nettement supérieure à celle nécessaire à la rupture de la liaison la plus forte, la décomposition s'effectuera, en général, d'une façon statistique, la probabilité pour qu'une liaison se rompe étant inversement proportionnelle à l'énergie de liaison : la quantité et la nature des produits de la radiolyse seront simplement liées à la quantité et à la nature des groupements parents dans la molécule.

Pour les états d'excitation égaux ou inférieurs au niveau d'activation de la liaison la plus forte, le mode de décomposition est plus ou moins influencé par la présence de certaines caractéristiques de structure dans la molécule, telles que des liaisons absorbant l'énergie d'excitation par résonance. Dans ce cas, la formation d'un seul produit est favorisée ; les réactions se rapprochent de celles de la photochimie.

Si la scission radiolytique de certains composés peut parfois s'effectuer par décomposition intramoléculaire, les fragments étant éliminés sous forme de molécules, dans la plupart des cas, la décomposition de la molécule excitée s'accompagne de la formation de radicaux libres.

Ces radicaux, en général très réactifs, interviennent sur d'autres radicaux ou des molécules situées à proximité.

Ce sont souvent ces réactions secondaires, telles que abstraction, recombinaison, dismutation, polymérisation, qui déterminent les effets terminaux.

Les molécules ionisées ont, en général, une durée de vie, et par conséquent une réactivité, intermédiaires entre celles des molécules excitées et des radicaux. Elles fournissent des réactions secondaires du type des réactions de radicaux ; on considère cependant que la majorité des molécules ionisées est neutralisée par des électrons libres sans formation de molécules fortement excitées.

Effet de protection « éponge ».

Certains composés, en particulier les substances aromatiques possédant une grande résistivité vis-à-vis des radiations, présentent la propriété de « protéger » un autre composé contre l'action du rayonnement. Cette protection est de nature physique et se place avant l'étape de la formation des radicaux libres.

La « protection » consiste dans le transfert de l'énergie d'ionisation ou d'excitation d'une molécule à la molécule protectrice. Ce transfert est possible à condition que le potentiel d'ionisation ou d'excitation de la molécule « protectrice » soit inférieur à celui de la molécule protégée. Si le corps protecteur dissipe cette énergie sans être transformé chimiquement, comme c'est le cas pour les composés aromatiques, l'énergie qui avait initialement conduit à l'excitation et l'ionisation du corps protégé n'a aucune conséquence chimique. On nomme cet effet du terme imagé de protection « éponge », le corps protecteur « épongeant » l'énergie absorbée par le corps protégé.

Radiolyse des solutions aqueuses.

Lorsqu'on irradie un composé en solution aqueuse, les effets obtenus sont essentiellement dus à l'action des radicaux, $H^\bullet$ et $OH^\bullet$, provenant de la décomposition d'une molécule d'eau excitée. Le rendement de ces réactions induites par le rayonnement augmente d'abord lorsque la concentration du corps croît, puis, dans un certain domaine de concentrations, il atteint un palier : l'énergie étant presque totalement absorbée dans l'eau, lorsque la concentration du corps est suffisante pour capter tous les radicaux issus de l'eau, il ne peut plus y avoir d'augmentation du rendement. Enfin, lorsque la solution devient très concentrée, une partie de l'énergie est absorbée directement dans les molécules du corps dissous et conduit à des effets qui peuvent être très différents de ceux observés en solution diluée.

D'une façon générale, le radical oxhydrile a un pouvoir oxydant suffisamment fort pour oxyder un grand nombre de substances. Mais d'un autre côté, l'hydrogène atomique est un réducteur puissant, si bien que ce qui a été oxydé d'un côté a tendance à être réduit de l'autre. Les composés facile-

ment oxydables seront donc oxydés avec des rendements plus ou moins grands selon que l'hydrogène atomique provoquera ou non une réaction inverse.

Irradiation des polymères.

Dans une macromolécule, l'énergie de radiation absorbée en un endroit déterminé peut être répartie dans une certaine mesure à l'intérieur de la molécule entre les résidus monomères voisins ; par suite de ce transfert, les réactions s'effectuent d'une façon moins anarchique que pour de petites molécules entre lesquelles les transferts d'énergie sont moins aisés et où les concentrations locales d'énergie risquent par conséquent d'être plus élevées.

Pour un grand nombre de polymères, les effets prédominants sont, ou la dégradation, ou la réticulation du polymère — accompagnés d'une transformation chimique des résidus monomères. Par exemple, se réticulent : le polyéthylène, le polyacrylonitrile, le caoutchouc naturel ; par contre, subissent une dégradation : le polyisobutylène, le polyméthacrylonitrile, la cellulose.

Bien que les recherches effectuées jusqu'à présent sur l'irradiation des polymères n'aient pas encore permis d'établir d'une façon certaine la relation entre la structure du monomère et les effets d'irradiation, certaines règles ont pu être dégagées :

- les polymères du type $-\text{CH}_2-\text{CR}_1\text{R}_2-$ sont dégradés ;
- ceux du type $-\text{CH}_2-\text{CR}_1\text{H}-$ ou $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ se réticulent

(R_1 et R_2 représentent des chaînes latérales).

La relation s'est révélée valable pour un grand nombre de polymères à squelette carboné.

Effets de l'intensité et de la dose du rayonnement.

Pour les polymères étudiés jusqu'à présent, les modifications conduisant à un raccourcissement ou à une réticulation des chaînes de polymères sont indépendantes de l'intensité du rayonnement dans un large domaine d'intensités. Dans le cas de l'irradiation du polyisobutylène, qui conduit à une dégradation de la chaîne, le même effet a été obtenu par des irradiations à une même dose délivrée soit par une source de radiations gamma en une journée, soit par un faisceau d'électrons en quelques secondes, soit encore par des radiations de pile atomique en quelques minutes (CHARLESBY, 1960).

Dans la plupart des cas, les modifications de la longueur de chaîne sont proportionnelles à la dose. Comme l'a fait remarquer CHARLESBY (1960), la dépendance linéaire entre la dose appliquée et l'effet induit se comprend aisément dans le cas de la dégradation : chaque interaction appropriée d'une particule ionisante conduisant à une seule rupture de chaîne.

Dans le cas de la réticulation, qui représente une réaction de synthèse secondaire, l'existence de cette relation linéaire impose certaines restrictions quant aux mécanismes impliqués. Comme la probabilité, pour que les deux molécules activées puissent apparaître assez près l'une de l'autre pour former une liaison, varie avec le carré de la dose, il convient de faire appel à l'une des deux hypothèses suivantes pour expliquer le mécanisme de la réticulation :

1° chaque réticulation implique un seul acte d'ionisation ou d'excitation, la molécule activée réagissant directement ou indirectement avec une molécule neutre voisine ;

2° chaque réticulation nécessite deux interactions séparées et indépendantes, mais les produits de réactions, par exemple des radicaux libres, sont suffisamment mobiles pour se mouvoir le long des chaînes, et d'une chaîne à une autre jusqu'à ce qu'ils se trouvent assez près l'un de l'autre pour la liaison de réticulation.

Les deux réactions doivent s'effectuer dans un temps très court excluant un effet de durée de l'irradiation en fonction de l'intensité du rayonnement.

Aspect statistique des modifications.

Les modifications induites par les radiations ionisantes en un endroit de la chaîne du polymère, se répètent le long de celle-ci. Dans la mesure où l'on peut négliger les effets spécifiques qui peuvent se produire aux extrémités des chaînes, la répartition des modifications induites se fait au hasard : elle est statistique.

Une analyse mathématique détaillée de l'aspect statistique de la dégradation et de la réticulation des polymères a été donnée par CHARLESBY (1960).

Utilisant les données expérimentales d'un travail de SAEMAN et coll. (1952) sur l'irradiation de la cellulose, CHARLESBY (1955) à l'aide d'une équation qui relie la viscosité à la dose appliquée, a pu vérifier l'allure statistique de la dégradation de la cellulose. La relation déduite montre en même temps la possibilité d'utiliser l'irradiation des polymères comme méthode d'investigation indirecte dans leur physicochimie.

En raison de l'intérêt qu'elles présentent, nous voudrions indiquer brièvement les déductions de CHARLESBY :

Soit p la probabilité de rupture de chaîne par unité de dose. Pour un échantillon comprenant A_0 molécules dont le degré de polymérisation moyen est de u_1 , le nombre de ruptures induites par une dose de radiations R sera de $A_0 p R u_1$, le nombre total des molécules augmentera de A_0 à $A_0 (1 + p R u_1)$.

Le poids moléculaire « moyen en nombre » M_n décroîtra de $u_1 m$ à $M'_n = \frac{u_1 m}{(1 + p R u_1)}$, où m est le poids moléculaire de l'unité monomère.

On pose $p u_1 = 1/R_0$, R_0 représentant la dose « virtuelle » de radiation nécessaire pour ramener une molécule d'un poids moléculaire infini au poids moléculaire initial. On aura alors :

$$(1) \quad M'_n = \frac{m}{p(R + R_0)}$$

Pour une distribution au hasard des poids moléculaires des polymères, il existe une relation simple entre le poids moléculaire obtenu par viscosimétrie M'_r et le poids moléculaire moyen en nombre M'_n :

$$(2) \quad \frac{M'_r}{M'_n} = (\alpha + 2)^{1/\alpha}$$

En introduisant dans cette expression la valeur de M'_n , on obtient :

$$(3) \quad M'_r = (\alpha + 2)^{1/\alpha} \frac{m}{p(R + R_0)}$$

La viscosité de la solution du polymère varie suivant l'équation :

$$(4) \quad (\eta) = K M'_r$$

En remplaçant M'_r de (4) dans l'équation (3) et en passant aux logarithmes, on a :

$$(5) \quad \log (\eta) = \log K + \frac{1}{\alpha} \log (\alpha + 2) + \log m/p - \log (R + R_0)$$

$$(5a) \quad \log (\eta) = \log (R + R_0) + \text{const.}$$

Dans un système de coordonnées logarithmiques, les valeurs viscosimétriques obtenues expérimentalement pour la cellulose irradiée dans le domaine des doses allant de 0,5 à 100 roentgens, se placent sur une droite : l'hypothèse d'une dégradation statistique se trouve ainsi justifiée.

La pente de la droite donne la valeur de « alpha » qui peut être comparée à des valeurs trouvées par d'autres méthodes (0,71 contre 0,77).

Par extrapolation des résultats à une dose de $R = 0$, on obtient la valeur de la dose « virtuelle » R_0 . Connaissant la valeur de la constante K de la relation (4) qui peut être déterminée à l'aide de « alpha », la relation (5) permet de calculer le nombre de ruptures de chaînes par unité de dose, p . La valeur réciproque du produit $p R_0$, qui mesure le nombre d'extrémités de chaîne de la cellulose non irradiée, est égale au DP moyen de celle-ci. Pour les linters de coton, le DP ainsi évalué est de 625, contre 700, valeur obtenue par des méthodes classiques.

3. — Effets chimiques des radiations ionisantes sur l'amidon

31. — Irradiation à l'état solide

Nous allons examiner les différents travaux déjà effectués sur l'irradiation de l'amidon et de ses constituants.

Travaux de SAMEC (1959-1960).

L'amidon de pomme de terre a été soumis aux radiations gamma du ^{60}Co à des doses allant jusqu'à 2 Mrads. Les principaux résultats obtenus en fonction de la dose appliquée sont les suivants :

- le pouvoir réducteur, mesuré par la méthode à l'hypoiodite, augmente ;
- la fraction précipitable, qui représente l'amylopectine à haut poids moléculaire, diminue
- la viscosité des solutions diminue ;
- la fraction ultrafiltrable augmente.

Ces différentes observations mettent en évidence l'allure générale de l'action des radiations sur l'amidon, qui consiste dans une dégradation des chaînes polysidiques.

L'auteur a constaté en outre que l'amidon irradié rétrograde en solution moins vite qu'un amidon de même viscosité, préparé d'après LINTNER.

Travail de KERTESZ et coll. (1958).

Les auteurs ont soumis aux radiations du ^{60}Co , jusqu'à des doses de 1,4 Mrads, l'amidon de pomme de terre et ses constituants. La teneur en eau des produits n'est pas précisée.

L'abaissement relatif de la viscosité spécifique de l'amidon, de l'amylose et de l'amylopectine irradiés isolément ainsi que celui de l'amylose et de l'amylopectine extrait de l'amidon irradié varie linéairement avec le logarithme de la dose, lorsque celle-ci est supérieure à 60 Krads.

Le pouvoir réducteur déterminé par la méthode à l'acide 2-4-dinitrosalicylique, augmente légèrement à partir d'une dose d'environ 100 krad.

Ainsi, la dégradation n'est appréciable qu'à partir d'une dose de 60 krad, et elle semble se faire de façon comparable pour l'amidon et ses constituants isolés ou non.

Travail d'EHRENBERG et coll. (1957).

Amidon, amylose de pomme de terre et amylopectine de maïs ont été soumis aux radiations du ^{60}Co pour des teneurs en eau variant d'environ 6 à 20 p. 100.

Cas de l'amidon :

Les auteurs constatent qu'une dose de 10^5 r suffit à rendre l'amidon de pomme de terre soluble dans l'eau.

Pour des doses situées entre 10 à 24 Mr, les teneurs en groupements réducteurs mesurées selon la méthode de SOMOGYI ne varient pas en fonction de la teneur en eau (entre 6 et 20 p. 100), alors que le nombre de groupements acides formés passe par un minimum entre 12 et 16 p. 100 d'eau. Entre 0,3 et 1 Mr, les mesures de viscosité spécifique indiquent que la dégradation est sensiblement deux fois plus importante pour l'amidon à 6 p. 100 d'eau que pour celui à 20 p. 100.

Cas de l'amylose :

Le nombre de ruptures de chaînes a été déterminé par une méthode indirecte basée sur l'absorption de l'iode par l'amylose, en prenant comme terme de comparaison l'amylose dégradée par l'alpha-amylase et dont le degré de polymérisation avait été estimé d'après le pouvoir réducteur. Ce mode opératoire suppose que, dans les deux cas, la dégradation des chaînes se fait au hasard.

A une dose de 30 Mr, le nombre de ruptures de chaînes varie dans le rapport de 2,5 à 1, quand la teneur en eau passe de 6 à 20 p. 100.

Cas de l'amylopectine :

Des mesures viscosimétriques indiquent qu'entre des doses de 0,2 et 1 Mr, la dégradation est 5 fois plus importante dans l'amylopectine à 5 p. 100 d'eau que dans celle à 20 p. 100.

Résumé : Les auteurs aboutissent ainsi à la conclusion que les différents effets induits n'évoluent pas de façon comparable en fonction de la teneur en eau.

Dans le cas des réactions de dégradation, l'eau exercerait un effet de « protection » : si l'on admet que l'absorption de 34,5 eV induit la formation d'une paire « d'ions » et l'excitation de 1 à 3 molécules, la variation de l'importance de dégradation observée en fonction de la teneur en eau peut être expliquée par un effet protecteur concernant seulement les molécules à l'état excité.

Travail de KOROTCHENKO et coll. (1960).

En traitant par les radiations gamma l'amidon de pomme de terre à 16 p. 100 d'eau, jusqu'à des doses de 18,5 Mr, les auteurs aboutissent aux résultats suivants :

- le pouvoir réducteur évolue proportionnellement à la dose ;
- la température d'empesage de l'amidon décroît en fonction de la dose : de 55°C, pour l'amidon non irradié, elle passe à 42,9°C pour une dose de 7,1 Mr et à 23,4°C pour 18,2 Mr ;
- la quantité de gaz formé, dont la nature n'a pas été déterminée, augmente rapidement avec la dose.

Travail de NIKUNI et coll. (1960).

Sur l'amidon de pomme de terre à 19 p. 100 d'eau, soumis à des doses d'irradiation gamma allant de 0,2 à 60 Mr, les auteurs ont déterminé :

- la viscosité intrinsèque dans la soude 1 N ;
- le pouvoir réducteur selon SOMOGYI ;
- l'acidité, par titration à la soude jusqu'à pH = 8,5 ;
- le nombre de groupements carbonyles, à l'aide de la méthode à l'hydroxylamine ;
- l'absorption de la coloration à l'iode.

Les résultats obtenus indiquent que les chaînes polyosidiques sont dégradées, qu'il y a formation de groupements acides et carbonyles ; les effets observés augmentent avec la dose. En outre, par chromatographie sur papier, le glucose, le maltose, l'acide glucuronique, l'acide gluconique, et l'arabinose ont pu être identifiés. La quantité de glucose libéré dans l'amidon irradié à 60 Mr a été estimée à 0,05 p. 100, par chromatographie sur colonne à échangeurs d'ions.

Les gaz formés au cours de l'irradiation ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse : H₂, CO, et CO₂ ont été identifiés.

Les diagrammes de diffraction aux rayons X montrent que la partie cristalline du grain d'amidon est endommagée de façon appréciable à partir d'une dose de 15 Mr.

Travail de RADLEY (1960).

Sur l'amidon de maïs, à une teneur en eau de 13,3 p. 100, irradié aux radiations cathodiques d'un générateur van de Graaf, à des doses entre 1-100 Mrads, l'auteur a déterminé en fonction de la dose appliquée l'évolution :

- du pouvoir réducteur ;
- de l'acidité ;
- de la coloration à l'iode.

Les résultats obtenus vont dans le même sens que ceux des travaux précédemment décrits.

32. — Irradiation en solution

Travail de STACEY et coll. (1956).

Une solution d'amylose à 0,1 p. 100 a été soumise aux radiations gamma. Les doses appliquées ne sont pas précisées. Du déplacement du maximum d'absorption de la coloration à l'iode, les auteurs

concluent que la dégradation des chaînes polyosidiques de l'amylose en solution s'effectue essentiellement au hasard rappelant le mode d'action de l'alpha-amylase.

Par chromatographie sur papier, le glucose, le maltose, le maltotriose, un tétrose et le glyoxal ont été identifiés.

Travail de KOROTCHENKO et coll. (1959).

En comparant les effets des radiations ionisantes sur l'amidon natif et sur des amidons empesés, les auteurs constatent que l'amidon natif est dégradé en dextrines conformément à un mode de rupture statistique des liaisons, tandis que les gels d'amidon subissent une rupture préférentielle des extrémités de chaîne avec libération de glucose et d'autres sucres. Les résultats ne sont pas évalués quantitativement.

33. — Résumé critique

Afin de faciliter une comparaison ultérieure avec nos propres observations, les principaux résultats des différents auteurs, ramenés à une dose d'irradiation de 30 Mrads, sont indiqués dans le tableau 1. Cette évaluation par interpolation ou extrapolation se justifie dans la mesure où les phénomènes évoluent proportionnellement à la dose, ce qui a été généralement constaté dans le domaine des doses considérées.

TABLEAU I

Principaux résultats des travaux antérieurs, extrapolés ou interpolés à une dose d'irradiation de 30 Mrads

Auteurs (année)	Source d'irrad., domaine de doses étudié	Matériel irradié	Eau (%)	D P	Sucres rédu., (%)	Groupelements carbonyles	Acides (%)
KOROTCHENKO (1959)	⁶⁰ Co 1-18 Mr	Amidon de pomme de terre	16		1,95		pas d'acide
EHRENBERG (1957)	⁶⁰ Co 10-30 Mr	Amidon de pomme de terre	6,4 13,2 16,0 20,8		2,84		1,26 0,88 0,81 2,26
—	—	Amylose	6,6 10,1 13,6 19,8	15,2 20,8 28,5 36			
NIKUNI (1960)	⁶⁰ Co 1-60 Mr	Amidon de pomme de terre	18,5		3,8	5,0	3,7
RADLEY (1960)	Rayons cathodiques 1-10 Mrads	Amidon de maïs	13,3		3,04		1,43

Les résultats obtenus montrent une certaine concordance dans l'allure des évolutions globales observées. L'action des radiations ionisantes sur l'amidon conduit :

- à la dégradation des chaînes polyosidiques ;
- à une oxydation, avec formation de fonctions carbonyles et acides ;
- à la formation de glucose et de certains de ses produits de transformation ;
- à la formation de gaz.

Au point de vue quantitatif, la comparaison des résultats s'avère difficile, les produits étudiés et les conditions d'irradiation et d'examen étant généralement très différents. Cependant, il est possible de relever certaines divergences importantes : EHRENBURG signale une solubilisation de l'amidon de pomme de terre à partir d'une dose de 0,1 Mr, alors que KOROTCHENKO, pour une dose sensiblement 70 fois plus grande, trouve encore une température d'empesage de 43°C.

De plus, EHRENBURG, à partir de mesures viscosimétriques, constate une influence très différente de la teneur en eau sur l'importance de la dégradation de l'amidon de pomme de terre et de l'amylopectine de maïs, le nombre de ruptures de chaînes étant 2,5 fois plus élevé dans le cas de l'amylopectine, pour une même variation de la teneur en eau. Par contre, le comportement de l'amylose semble se rapprocher de celui de l'amidon.

Le tableau 1 fait ressortir les différences dans le pourcentage de groupements réducteurs mesurés ; selon les auteurs, les résultats passent de 1,95 à 3,8 p. 100 pour des produits à teneur en eau voisine. Ces écarts peuvent s'expliquer en partie par le fait que les réactifs employés pour le dosage ne sont pas spécifiques d'un groupement déterminé ; appliqués à un amidon non modifié, ils réagissent plus ou moins spécifiquement avec ses groupements aldéhydiques terminaux en fournissant des résultats comparables ; par contre, dans le cas de l'amidon irradié, les résultats seront différemment influencés par la présence de nouveaux groupements.

La quantité de groupements acides formés varie également d'un auteur à l'autre. Ces écarts proviennent sans doute de la présence de différents types d'acides, et éventuellement, de lactones donnant lieu à une variation de pH mal définie au cours de la neutralisation.

Cette somme de résultats déjà obtenue se présente ainsi sous une forme assez hétérogène, en raison du manque de spécificité de la plupart des mesures effectuées et de la disparité des conditions d'étude. Aucune conclusion précise ne peut en être dégagée quant aux mécanismes de réaction impliqués.

II. — TRAVAUX PERSONNELS

Dans le but d'apporter une contribution à la connaissance de l'action des radiations gamma sur l'amidon, nous avons entrepris cette étude sur l'amidon de pomme de terre irradié à une dose de 30 Mrads, susceptible de fournir des modifications suffisamment nettes, et à des teneurs en eau choisies en fonction de nos connaissances sur l'état de fixation de l'eau dans l'amidon.

Nous nous sommes efforcés de préciser et compléter la caractérisation de l'amidon irradié, en utilisant certaines méthodes plus spécifiques que dans les travaux antérieurs. En outre, nous avons abordé l'étude du mécanisme des réactions en essayant de déterminer la nature des modifications induites dans les unités glucose et d'identifier les produits de dégradation de faible poids moléculaire.

Ainsi, dans une première partie, nous examinons l'évolution globale de certaines caractéristiques physico-chimiques et chimiques de l'amidon irradié :

- solubilité dans l'eau et dans le méthanol à 90 p. 100, à 20°C ;
- absorption ultraviolette ;
- DP moyen par viscosimétrie ;
- nombre de groupements fonctionnels formés ;
- nombre d'unités glucose modifiées.

Dans une seconde partie, nous abordons l'étude des modifications subies par les unités glucose des chaînes macromoléculaires. Après hydrolyse acide complète des liaisons glucosidiques de la fraction macromoléculaire de l'amidon irradié, les produits obtenus sont séparés par chromatographie sur papier, et caractérisés.

Dans une troisième partie, nous étudions les produits de faible poids moléculaire présents dans l'extrait, à l'alcool à 80 p. 100, de l'amidon irradié. La rupture des chaînes sous l'influence des radiations ionisantes s'effectuant d'une façon statistique, ces produits peuvent être considérés comme les témoins d'un type de dégradation déterminé, dans la mesure où ils n'ont pas subi de modifications ultérieures. Leur examen permettra ainsi d'aborder l'étude des mécanismes de la dégradation.

1. — Matériel et méthodes utilisées.

II. — PRÉPARATION ET IRRADIATION DES ÉCHANTILLONS D'AMIDON

Nous avons utilisé un amidon de pomme de terre préparé industriellement dont la teneur en eau initiale était de 15,7 p. 100. Des échantillons à différentes teneurs en eau ont été préparés à partir de l'amidon initial de la façon suivante :

- les échantillons à 0,8 et 3 p. 100 : par déshydratation contrôlée sous une pression de 10 à 20 mm de mercure, en présence de P_2O_5 ;
- ceux à 9,2 et 21,2 p. 100, respectivement par désorption et sorption dans une atmosphère à une humidité relative correspondante ;

— ceux à 40 p. 100 : par mélange avec la quantité d'eau suffisante et repos pour obtenir une hydratation homogène.

L'irradiation a été effectuée en ampoules de verre pyrex scellées. La source d'irradiation, mise à notre disposition par le Laboratoire de la Station de Technologie végétale de l'INRA (1) est constituée de 12 canaux en fer contenant des quantités de ^{60}Co déterminées, disposés selon les génératrices d'un cylindre au centre duquel est placé l'échantillon. Son activité est de 1 400 Curies et elle fournit un champ d'énergie homogène, les variations d'intensités d'énergie étant inférieures à 5 p. 100. Tous les échantillons ont reçu une dose d'irradiation de $30 \pm 1,5$ Mrads, le débit, mesuré par dosimétrie au sulfate ferreux, étant de 2,5 krads/mminute.

12. — MÉTHODES D'ANALYSE UTILISÉES

CARACTÉRISATION GLOBALE DE L'AMIDON IRRADIÉ

Techniques physico-chimiques

Solubilité dans l'eau et dans le méthanol à 90 p. 100 à 20°C.

L'amidon non irradié étant complètement insoluble dans l'eau à température ordinaire, sa solubilisation partielle après irradiation constitue un premier indice de sa dégradation.

Solubilité dans l'eau.

Mettre en suspension 1 g d'amidon dans 10 ml d'eau à 20°C, dans un tube de centrifugeuse. Agiter pendant 15 minutes, puis centrifuger. Décanter la solution obtenue dans une capsule tarée. Répéter la même opération encore deux fois. Évaporer l'ensemble de l'extrait à sec, dans une étuve à infra-rouge, peser le résidu après refroidissement.

Solubilité dans le méthanol à 90 p. 100.

Éluer dans une capsule 2 g d'amidon placés dans un tube étiré à une extrémité, avec 15 ml de méthanol à 90 p. 100. Évaporer l'extrait à sec sous vide et peser le résidu.

Mesure de l'intensité d'absorption à 262 m μ des solutions à 0,2 p. 100.

Les solutions de l'amidon irradié absorbent fortement la lumière ultraviolette. L'allure de la courbe est peu marquée, l'absorption étant maximale entre 257 et 268 m μ ; elle reste pratiquement identique pour les amidons à différentes teneurs en eau. Au contraire, l'intensité de l'absorption varie sensiblement.

Les densités optiques (DO) à 262 m μ des solutions à 0,2 p. 100 d'amidons irradiés en fonction de leur teneur en eau, sont mesurées dans des cuves de quartz de 1 cm d'épaisseur à l'aide d'un spectrophotomètre « Spectral Jouan ».

Détermination du DP moyen par viscosimétrie.

La plupart des méthodes physiques de détermination du poids moléculaire des macromolécules s'applique seulement à une série de polymères homologues d'une forme donnée, la propriété physique sur laquelle la méthode est basée évoluant selon une loi déterminée en fonction du DP du polymère étudié. L'amidon, étant un mélange de deux polymères dont les propriétés physiques varient différemment avec le DP, ne se prête pas à de telles mesures. En outre, l'osmométrie, méthode simple et applicable à des mélanges de polymères, ne peut être utilisée, étant donné la difficulté d'obtenir des membranes convenables pour des produits de poids moléculaire relativement faible (8 000 environ) qui sont à mesurer. L'utilisation de méthodes chimiques n'est plus justifiée, dans le cas de l'amidon irradié, en raison des nombreuses modifications des unités glucose. Nos déterminations ont été effectuées par une méthode indirecte, basée sur la viscosité, analogue à celle utilisée par EHRENBERG (1957) dans le cas de l'amylose irradié.

L'action de l'alpha-amylase bactérienne et celle d'un acide fort en faible concentration, sur l'amidon en solution, étant essentiellement statistique, la relation entre le DP mesuré par voie chimique et la viscosité établie pour les amidons dégradés par l'un ou l'autre de ces agents pourra servir

(1) Nous tenons à remercier particulièrement le personnel du laboratoire qui s'est chargé de l'irradiation.

à l'évaluation du DP d'un amidon irradié, à partir de mesures viscosimétriques. Ce procédé d'évaluation se justifie, dans la mesure où l'on peut négliger :

— d'une part, les divergences, par rapport à une action statistique, de l'action de l'alpha-amylase, de l'acide et éventuellement de celle des radiations ionisantes ;

— d'autre part, les variations de la viscosité dues aux modifications chimiques des résidus glucose de l'amidon irradié correspondant à un DP moyen donné.

Détermination de la courbe d'étalonnage : viscosité intrinsèque de l'amidon en fonction de son DP.

$$(\eta) = f(\text{DP}) :$$

Mode opératoire.

a) Hydrolyse par l'alpha-amylase :

Laisser agir sur une solution d'amidon à 0,6 p. 100, à une température de 20°C en milieu non tamponné, une quantité d'alpha-amylase bactérienne permettant d'obtenir un DP moyen d'environ 20, en 12 heures. Prélever à des intervalles de temps convenables, des prises d'essais ; bloquer aussitôt l'action de l'alpha-amylase par addition d'une goutte d'acide sulfurique concentré.

b) Hydrolyse acide :

Chauffer une solution d'amidon à 0,6 p. 100 dans l'acide sulfurique 0,1 N, en ampoule scellée, au bain-marie bouillant pendant des temps permettant d'obtenir des DP entre 20 et 80 (1 à 3 h).

c) Mesure de la viscosimétrie :

Déterminer la viscosité dans un viscosimètre d'OSTWALD, muni d'un capillaire de 0,6 mm de diamètre, placé dans un thermostat réglé à 22°C $\pm$ 0,05. Chronométrer le temps d'écoulement de l'eau (t_0), et des solutions d'amidons dégradés diluées à une série de concentrations entre 0,1 et 0,6 p. 100 (tn).

d) Mesure du DP moyen :

Déterminer le DP moyen des chaînes d'amidon dans les solutions prélevées, par la méthode au chlorite.

Les viscosités spécifiques des solutions d'amidon dégradé $\eta = \frac{tn}{t_0} - 1$, évoluent linéairement avec la concentration, entre 0,1 et 0,6 p. 100 ; la valeur obtenue par extrapolation à une concentration de 1 p. 100 représente la viscosité intrinsèque (η).

Les résultats de la détermination de la variation de la viscosité intrinsèque de l'amidon en fonction de son DP sont rassemblés dans le tableau 2 et la figure 2.

TABLEAU 2

Viscosité intrinsèque et DP d'hydrolysats d'amidon obtenus

Par action de l'alpha-amylase		Par action de l'acide sulfurique 0,1 N	
(η)	DP	(η)	DP
0,124	33,3	0,125	33,3
0,153	47,5	0,139	38
0,171	56	0,158	46,6
0,191	62,5	0,175	53
0,204	68	0,228	81

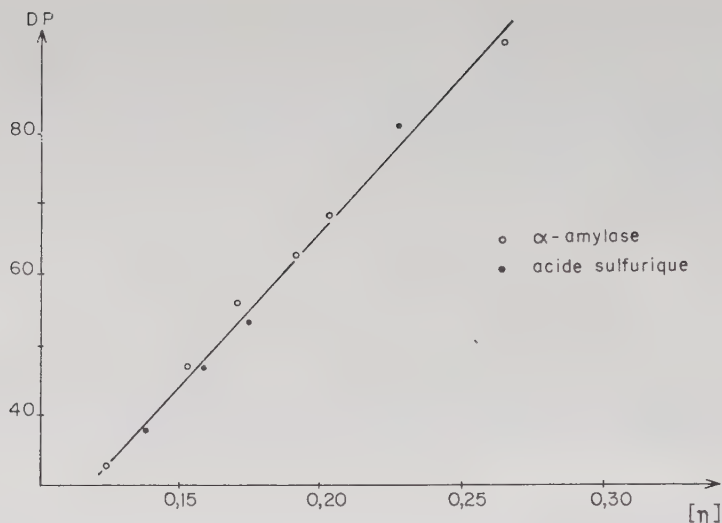


FIG. 2. — Viscosité intrinsèque, en fonction du DP moyen, de solutions d'amidons hydrolysés par l'alpha-amylase ou l'acide sulfurique

Dans les limites des erreurs expérimentales, de l'ordre de ± 2 p. 100, on peut tracer une courbe unique pour représenter la variation de la viscosité en fonction du DP des produits hydrolysés par l'acide et l'alpha-amylase. Compte tenu des causes possibles de divergences par rapport à une action statistique :

- attaque des seules liaisons α -1,4 par l'alpha-amylase,
- libération préférentielle des unités glucose terminales par les acides,

Ce résultat nous semble montrer que, dans la zone des DP étudiés, ces réactions préférentielles n'ont qu'une influence négligeable sur la répartition statistique des fragments.

Méthodes de dosage chimique

Dosage de groupements fonctionnels.

Détermination des groupements aldéhydiques par la méthode au chlorite.

La méthode au chlorite, élaborée dernièrement par LAUNER et TOMIATSU (1959, 1961) semble être particulièrement adaptée pour l'étude des groupements aldéhydes de l'amidon modifié par oxydation. Contrairement aux méthodes habituellement employées, telles que celles à l'hypiodite ou celles utilisant des sels de cuivre, nécessitant un milieu alcalin qui donne lieu à des dégradations et des suroxydations, la méthode au chlorite s'effectue en milieu acide où l'amidon et ses dérivés sont plus stables. De plus, elle est, dans une large mesure, spécifique du groupement aldéhydique.

Appliquée aux divers amidons non modifiés, elle est, parmi les méthodes chimiques, celle dont les résultats concordent le mieux avec les DP obtenus à l'aide de méthodes physiques. Dans le cas des amidons modifiés par oxydation périodique, sa validité pour la détermination des groupements aldéhydiques a été vérifiée.

Avec les amidons irradiés, on ne peut guère espérer que la méthode puisse permettre une détermination du DP en raison de l'existence possible de plusieurs groupements aldéhydiques sur une même macromolécule. Par contre, elle servira à déterminer le nombre de fonctions aldéhydiques.

Principe du dosage.

La réaction mise en jeu est la suivante :



L'aldéhyde présente est déterminée indirectement par mesure de la quantité de chlorite ayant réagi.

Il y a lieu cependant de tenir compte du fait qu'au cours de la réaction, une partie du chlorite se décompose ; cette décomposition s'effectuant à des vitesses différentes suivant la présence ou non de l'aldéhyde et selon la nature de celle-ci. Dans ces conditions, il est nécessaire de déterminer expérimentalement le rapport de conversion R entre la quantité de chlorite apparemment consommée et le nombre de groupements aldéhydiques présents.

Connaissant la loi cinétique de la décomposition du chlorite, les auteurs précités ont établi la relation entre R et la concentration en aldéhyde dosée A_0 en fonction des concentrations en chlorite initiale C_i et finales correspondant à sa décomposition en présence d'aldéhyde, C_a et en son absence C_b :

$$R = \frac{1}{A_0} (C_b - C_a) \frac{C_i}{C_b}$$

Exprimée par rapport au volume de solution de thiosulfate utilisé pour la titration du chlorite l'expression précédente devient :

$$R = \frac{1}{A_0} (V_b - V_a) \frac{V_i}{V_b} \cdot \frac{N}{4r}$$

où

N = normalité de la solution du thiosulfate,

v = le volume de la solution réactionnelle,

4 = le facteur de réaction entre chlorite et thiosulfate.

En étudiant les variations du rapport R avec la nature de l'aldéhyde à doser, les auteurs ont montré qu'elles sont réduites au minimum, en opérant en milieu tampon phosphate 3 M à pH = 3,2 à 50°C. A condition de rester dans les limites admises de concentrations en aldéhyde et en chlorite, R se situe, pour une grande variété d'aldéhydes, entre 2,56 et 2,73 ; les valeurs correspondant au glucose et au maltose sont de 2,66 et 2,56 respectivement. Dans le cas de l'amidon, les auteurs admettent une valeur de R correspondant à celle du maltose.

Connaissant R, la quantité d'aldéhyde peut être calculée à l'aide de l'expression précédente, à partir de la détermination de la concentration initiale en chlorite, C_i et de celles correspondant aux concentrations finales dans l'essai à blanc C_b et sans le milieu à étudier, C_a .

Pour une série de dosages, deux déterminations par dosage, celles du blanc et de l'essai suffisent, R, V_i , V_b et N étant des constantes.

En posant $\frac{V_i \cdot N}{V_b \cdot 4 \cdot R} = f$, l'expression précédente se transforme en :

$$Q = A_0 V = f (V_b - V_a)$$

où Q = la quantité d'aldéhyde ayant réagi.

Description de la technique.

1° Matériel et réactifs :

- bain-marie thermostaté à $50^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$;
- tubes à essai pyrex, d'environ 2,5 cm de diamètre et 20 cm de haut, permettant d'effectuer la réaction à l'obscurité ;
- tampon phosphate donnant, après dilution 1/1, une solution 3 M à pH = 3,2 à 50°C : 828 g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ et 19,6 g H_3PO_4 à 85 p. 100 sont dissous dans 1 l d'eau.
- solution de chlorite : une solution stock 0,1 M est préparée par dissolution de 9,1 g de NaClO_2 dans 1 l d'eau ; la solution est diluée avant utilisation à 0,008 M environ ;
- acide sulfurique 6 N ;
- thiosulfate 0,01 N ;
- iodure de potassium ;
- aldéhyde : la concentration en aldéhyde doit être comprise entre 0,0001 M et 0,002 M.

2° Mode opératoire :

Introduire 10 ml de la solution tampon dans le tube à essai, puis 5 ml de la solution de chlorite et 5 ml de la solution contenant l'aldéhyde à doser. Fermer le tube par un capuchon constitué par une feuille d'aluminium par exemple et le placer dans un bain-marie à 50°C. Effectuer un essai à blanc dans des conditions identiques. Après réaction, refroidir les tubes dans un bain de glace. Chasser le ClO_2 par un courant d'azote pendant 10 minutes. Ajouter 15 ml d'une solution d'acide sulfurique 6 N contenant 1,6 g d'iodure de potassium. Laisser réagir pendant 10 minutes et titrer l'iode libéré, par le thiosulfate 0,01 N.

Détermination des groupements carbonyles totaux.

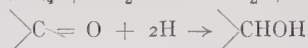
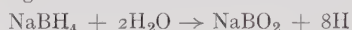
En chimie des polyholosides, deux méthodes de dosage des fonctions carbonyles sont habituellement utilisées : la méthode au chlorhydrate d'hydroxylamine, $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, et la méthode au borohydrure de sodium, NaBH_4 .

La première est basée sur la titration du HCl libéré au cours de la réaction du chlorhydrate d'hydroxylamine avec les groupements carbonyles :



Dans le cas d'un amidon contenant des fonctions acides, les valeurs de titration du HCl doivent être corrigées.

Dans notre étude, nous avons choisi la méthode au borohydrure de sodium qui est basée sur la mesure manométrique de l'hydrogène consommé dans la réduction des groupements carbonyles :



Pour la plupart des produits carbonylés, la fonction carbonyle est facilement réductible à des pH supérieurs à 12, pH à partir desquels la solution de NaBH_4 reste stable pendant plusieurs heures. Par contre, la réduction des fonctions pseudo-aldéhydiques des sucres ne se produit à une vitesse convenable qu'à des pH inférieurs à 12. LINDBERG et THEANDER (1954), en étudiant les conditions optimales pour le dosage des sucres préconisent un pH situé entre 9 et 10 en milieu tampon borate.

Étant donné l'autodécomposition du réactif, la réduction n'est quantitative qu'en présence d'un excès de celui-ci, qui, dans le cas du maltose par exemple, devra représenter trois fois la quantité théoriquement nécessaire pour la réduction complète.

Dans ces conditions, et à un pH voisin de 9,6, la réduction du maltose est quantitative en deux heures.

Description de la méthode.

Matériel et réactifs :

- ballon de 50 ml portant latéralement sur le col deux diverticules de 10 ml environ ;
- burette à gaz d'une capacité de 25 ml, graduée en 1/10 de ml ;
- bain-marie thermostaté à 20°C ;
- solution d'acide borique 0,133 M ;
- solution de NaBH_4 à 0,2 p. 100 dans NaOH 0,1 N ;
- solution d' H_2SO_4 6 N ;

Mode opératoire.

Peser 0,3 à 0,4 g d'amidon irradié dans le ballon à réaction ; y ajouter 5 ml de solution d'acide borique.

Pipeter exactement 5 ml de solution de NaBH_4 dans un des diverticules et 3 ml de solution sulfurique dans l'autre.

Placer le ballon dans le thermostat et le relier à la burette à gaz.

Attendre 15 minutes pour laisser l'équilibre thermique s'établir ; fermer le robinet de communication de la burette avec l'atmosphère.

Incliner le ballon pour introduire la solution de NaBH_4 sur l'amidon.

Laisser réagir pendant 2 heures en agitant de temps en temps.

Décomposer ensuite l'excès de NaBH_4 à l'aide de l'acide sulfurique en agitant fortement le ballon et en rinçant complètement le diverticule ayant contenu le borohydrure de sodium. Mesurer, à la pression atmosphérique, le volume d'hydrogène dégagé. Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions.

Calcul des résultats.

La différence des volumes d'hydrogène dégagés dans l'essai à blanc V_b et l'essai V_e permet de calculer le nombre de groupements carbonyles réduits. Compte tenu des conditions de température $T^\circ\text{K}$ et de pression p (mm Hg), 1 ml H_2 utilisé dans la réduction correspond à :

$$\frac{1}{22,4} \cdot \frac{T}{273} \cdot \frac{p}{760} \text{ millimol de groupements carbonyles.}$$

Détermination des groupements acides.

La titration directe des fonctions acides d'un amidon modifié présente des difficultés : d'une part, les macromolécules de l'amidon perturbent, par interactions secondaires, la neutralisation ; d'autre part, les lactones et les fonctions carbonyles, toujours présentes en même temps que les fonctions acides, donnent naissance à une acidité supplémentaire, dès que le milieu devient alcalin.

Dans ces conditions, nous nous sommes efforcés de mesurer d'une part, l'acidité « libre » et, d'autre part, l'acidité développée en milieu alcalin.

Acidité libre.

Elle est déterminée par la méthode à l'acétate de calcium qui évite certaines difficultés d'une titration directe. Mis en suspension dans une solution d'acétate de Ca, l'amidon échange ses ions H^+ contre des ions Ca^{++} qui sont ainsi éliminés de la solution. Le dosage de l'acide acétique libéré dans la solution surnageante permet de mesurer l'acidité de l'amidon étudié.

Dans le cas de l'amidon irradié, les avantages de la méthode au Ca^{++} ne sont que partiellement conservés étant donné qu'une partie du produit se dissout. De plus, du fait que, suivant la teneur en eau, la quantité d'amidon soluble dans la solution d'acétate de Ca varie dans de larges limites (4. p. 100 pour l'amidon irradié en présence de 40 p. 100 d'eau, 75 p. 100 pour l'amidon à 0,8 p. 100), les résultats ne seront pas strictement comparables.

Mode opératoire.

Peser dans un tube de centrifugeuse 0,250 g d'amidon irradié ; les mettre en suspension dans 12 ml d'une solution d'acétate de Ca 0,5 N. Laisser en contact pendant deux heures en agitant de temps en temps. Centrifuger et titrer un prélèvement de 10 ml de la solution avec de la soude 0,01 N, jusqu'au virage de la phénolphthaleïne.

Acidité des solutions d'amidon irradié se développant en milieu alcalin.

Mode opératoire :

Préparer, dans un erlenmeyer de 50 ml, une solution de 0,250 g d'amidon irradié dans 20 ml d'eau, par chauffage vers 50°C . Refroidir la solution et chasser l'oxygène et l'acide carbonique par un courant d'azote. Ajouter 5 ml de NaOH 0,1 N et fermer le récipient avec un bouchon de caoutchouc. Bloquer l'action de la soude, à des intervalles de temps fixés, par addition de 5 ml de solution d' HCl 0,1 N. L'acidité de la solution est alors mesurée par titration potentiométrique jusqu'à $\text{pH} = 8,5$. En déduisant de ce résultat les valeurs de l'acidité « libre » trouvée, on obtient l'acidité développée en milieu alcalin.

Dosage des glucides totaux par l'anthrone.

Effectuée selon un mode opératoire déterminé, la réaction à l'anthrone en présence d'acide sulfurique, est spécifique des glucides en donnant naissance à des colorations très intenses qui sont dues aux produits de réaction de l'anthrone avec des dérivés furfuryliques. Les divers types de glucides, dans la mesure où ils forment des dérivés furfuryliques distincts, développent des colorations différant plus ou moins par leur teinte et leur intensité.

En suivant le mode opératoire élaboré par LOEWUS (1952) pour le dosage du glucose, l'amidon

non irradié est dosé à 100 p. 100 en utilisant la courbe d'étalonnage du glucose. Dans le cas de l'amidon irradié, le rendement du dosage évalué en glucose se trouve diminué ; on admettra que le déficit est dû surtout à l'existence de produits non glucidiques, sans cependant pouvoir fixer dans quelle mesure le rendement du dosage correspond à la somme du glucose et des unités glucose qui ne sont que peu modifiées.

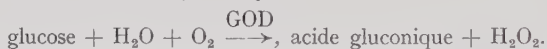
La précision du dosage pour des quantités de 20 à 100 gamma de glucides est d'environ 1,5 p. 100.

Dosage du glucose après hydrolyse complète de l'amidon.

Le dosage du glucose, libéré après hydrolyse complète de l'amidon irradié, par oxydation spécifique en présence de glucose-oxydase, permet de déterminer le nombre d'unités glucose modifiées. L'amidon à la concentration de 1 p. 100 dans une solution sulfurique 1 N en ampoule scellée est hydrolysé à la température du bain-marie bouillant pendant trois heures. Le dosage du glucose est effectué selon la méthode élaborée par HUGETT et NIXON (1957).

Principe du dosage :

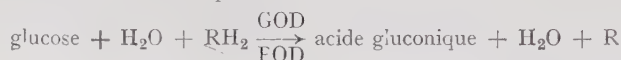
La glucose-oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du D-glucose en gluconolactone, qui, réagissant avec une molécule d'eau, forme l'acide gluconique :



Simultanément, l'eau oxygénée formée, en présence de la peroxydase (POD), oxyde un donateur d' H_2 (par exemple le *o*-dianisidine) pour donner le colorant R :



En somme, la réaction suivante se produit :



La quantité du colorant R formé mesure donc la quantité de glucose présent. La méthode permet le dosage de 10 à 60 gamma de glucose avec une précision de ± 1 p. 100.

Les conditions d'hydrolyse et de dosage ont été étudiées pour l'amidon non irradié : un rendement de 99 p. 100 a été obtenu, le déficit de 1 p. 100 représentant des produits d'inversion du glucose, notamment de l'isomaltose.

ÉTUDE DE LA PARTIE MACROMOLÉCULAIRE DE L'AMIDON IRRADIÉ

Dans cette partie de notre travail, nous abordons l'étude de la nature des modifications induites dans les unités glucose des chaînes macromoléculaires de l'amidon.

Après hydrolyse acide de l'amidon irradié, les produits obtenus sont examinés par chromatographie sur papier ; certaines des substances mises en évidence sont isolées par chromatographie préparative en vue de leur caractérisation.

Préparation

Mettre 1 g d'amidon irradié en suspension dans 10 ml d'alcool à 80 p. 100 ; agiter pendant 5 minutes, centrifuger. Décanter la solution et répéter la même opération encore deux fois pour obtenir la partie insoluble (fraction macromoléculaire I) de l'amidon.

Hydrolyse

Chauffer, dans un ballon à col rodé muni d'un réfrigérateur à reflux, 1 g de la fraction I dans 100 ml de solution sulfurique 1 N, pendant 2 heures au bain-marie bouillant. Refroidir la solution et neutraliser l'acide à l'aide du carbonate de Na jusqu'à un pH compris entre 4 et 5, évitant ainsi la neutralisation des acides faibles provenant de l'amidon irradié. Centrifuger et récupérer la solution.

Fractionnement de l'hydrolysate par chromatographie sur papier

1° Examen qualitatif.

Les essais ont été effectués sur papier Whatman n° 1, par écoulement descendant du solvant, dans une cuve de 60 cm de hauteur et 20 cm de diamètre placée dans une chambre thermostatée à 25°C.

La phase organique du mélange ternaire *n*-butanol/acide acétique/eau (4/1/5) est utilisée pour développer le chromatogramme saturé avec les vapeurs de la phase aqueuse du mélange.

Nous avons tiré avantage d'un dispositif mis au point dans notre laboratoire (DRAPRON, 1961) qui consiste essentiellement en un ventilateur permettant une homogénéisation rapide de l'atmosphère de la cuve. On obtient ainsi, en particulier, une saturation rapide du papier-support par les vapeurs de la phase aqueuse et une meilleure résolution des taches par suite d'une évaporation partielle du solvant provoquée par l'établissement d'un gradient de température dans la cuve.

Des taches correspondant à 500 gamma de produits sont déposées sur le papier. Après un développement d'environ 16 h, le chromatogramme est séché et les substances séparées sont révélées par pulvérisation d'un réactif approprié.

Composition des réactifs utilisés et conditions de révélation.

a) Révélation des sucres et de leurs dérivés.

— *Phthalate d'aniline* :

Dissoudre 1,66 g d'acide phthalique et 0,9 g d'aniline dans 100 ml de butanol saturé d'eau. Chauffer le chromatogramme dans une étuve à 100°C pendant 5 minutes.

Réactions des aldoses : coloration brune avec les aldohexoses — coloration rouge avec les aldopentoses.

L'hydroxyméthylfurfural réagit à température ambiante en donnant une coloration orangée.

— *Naphtorésorcine* :

Dissoudre 0,1 g de naphtorésorcine dans 100 ml de solvant composé de 80 ml d'alcool et 20 ml d' HCl 2 N.

Chauffer le chromatogramme à 75°C pendant 5 minutes.

Réactions : cétohexoses = coloration rouge ; acide glucuronique = coloration bleue.

L'hydroxyméthylfurfural (HMF) réagit à température ambiante en donnant une coloration rouge.

— *Diphénylamine* :

Dissoudre 2 g de diphénylamine et 5 g d'acide trichloracétique dans 100 ml d'un mélange 1 : 1 de *n*-butanol et de méthanol.

Chauffer le chromatogramme à 100°C pendant 5 minutes.

Réactions : Aldohexoses = coloration brune ;

Aldopentoses = coloration verte.

— *Periodate/Benzidine* :

Solution de 1 ml de métaperiodate dans 19 ml d'acétone ;

Solution de 0,184 g de benzidine dans 100 ml d'acétone contenant 0,6 ml d'acide acétique.

Immerger le chromatogramme dans la solution de periodate, laisser sécher pendant 10 minutes ; l'immerger dans la solution de benzidine.

La position des substances ayant réagi est marquée par une tache blanche sur le fond bleu du chromatogramme.

b) Révélation des composés carbonylés.

— *2,4-Dinitrophénylhydrazine* :

Dissoudre 0,1 g de 2,4-dinitrophénylhydrazine dans 100 ml d'alcool à 95 p. 100. On a formation d'hydrazone — coloration orange sur fond jaune avec :

les composés à groupement carbonyle « libre », à température ambiante ;

- les cétooses, à 70°C ;

— les aldohexoses ne sont pas révélés.

c) Révélation des acides.

Dissoudre 0,03 g de rouge de méthyle dans 100 ml de borate de sodium 0,05 N. Après pulvérisation de la solution, les acides apparaissent en taches rouges sur un fond jaune.

2° Chromatographie préparative.

Les essais sont effectués sur papier Whatman n° 3 dans des cuves de 60 cm de longueur et 30 cm de largeur en utilisant le solvant précédemment indiqué.

Après concentration sous pression réduite, un volume contenant environ 1 g de substance sèche est déposé le long d'une ligne sur une feuille de dimensions 46 × 60 cm. Après développement, les substances sont repérées à partir de 2 bandes étroites détachées de la feuille et révélées au phtalate d'aniline. Les fractions du chromatogramme contenant les produits à examiner sont découpées et éluées par l'eau.

Caractérisation des substances séparées

Les techniques de caractérisation appliquées aux produits obtenus par chromatographie préparative sont indiquées au cours de l'exposé des résultats.

ÉTUDE DES PRODUITS DE DÉGRADATION DE FAIBLE POIDS MOLÉCULAIRE

Préparation et fractionnement des produits par chromatographie sur papier

Peser 0,300 g d'amidon irradié dans un tube de 1 cm de diamètre, étiré à une extrémité. Éluer avec 10 ml de méthanol à 90 p. 100 dans une petite capsule. Évaporer le solvant sous pression réduite jusqu'à un volume d'environ 0,1 ml.

Déposer la solution en un point du papier-support en activant l'évaporation du solvant par un courant d'air froid (les produits étant sensibles à la chaleur). Rincer la capsule plusieurs fois avec du méthanol pour récupérer la totalité des produits.

La chromatographie est effectuée selon la technique décrite précédemment.

Identification et dosage du glucose

Identification :

En raison de sa faible proportion, le glucose présent dans l'amidon irradié ne pouvait être identifié par voie classique ; il est caractérisé d'une part par chromatographie, d'autre part par la réaction à la glucose-oxydase.

Dosage :

Le dosage du glucose est effectué à l'aide de la méthode à la glucose-oxydase (HUGUET et NIXON, 1957). Comme il a été signalé par plusieurs auteurs, les préparations de glucose-oxydase ne sont pas strictement spécifiques, les perturbations étant surtout dues à la présence de traces de glucosidase qui libérerait des quantités notables de glucose dans le cas d'un substrat contenant une proportion élevée de polymères de glucose. Pour des quantités de glucose et glucides comparables, les erreurs sont généralement de l'ordre de 0,1 p. 100. Afin de réduire au minimum les perturbations, nous avons effectué le dosage sur l'extrait méthanolique de l'amidon irradié. Les résultats sont reproductibles dans les limites de ± 5 p. 100.

Identification et dosage du 5-hydroxyméthylfurfural (HMF)

Identification :

Les déterminations suivantes ont été effectuées :

- repérage de la position de la tache sur le chromatogramme par rapport à la substance témoin ;
- réaction sur le chromatogramme avec le phtalate d'aniline et la naphtrésorcine ;
- spectre UV, après élution du produit séparé par chromatographie ;
- évaluation semi-quantitative du coefficient d'absorption.

Dosage :

Étant donné le coefficient d'absorption molaire élevé de 16 500, au maximum d'absorption à 282 m μ , le dosage du HMF par spectrophotométrie est très sensible et dans une large mesure spécifique ; une densité optique (DO) de 1 correspond à une concentration de 7,6 gamma HMF/ml.

Le HMF est dosé sur l'éluat aqueux de la substance séparée par chromatographie sur papier à partir d'un extrait méthanolique correspondant à 0,200 g d'amidon. L'absorption d'un essai à blanc du papier est de l'ordre de 0,02 DO par rapport à des DO de 0,30 à 0,60 mesurés pour les essais.

Pour examiner la validité du mode opératoire adopté, nous avons effectué une série de dosages du HMF témoin après un traitement identique à celui subi par le HMF présent dans l'amidon irradié : extraction au méthanol à 90 p. 100 de la substance adsorbée par l'amidon, chromatographie et élution de la bande de papier par l'eau. La récupération du HMF, après ces opérations, était en moyenne de 95 p. 100, la précision du dosage étant voisine de ± 5 p. 100.

La fidélité des résultats concernant la quantité de HMF existant dans l'amidon irradié est sur tout fonction de l'efficacité de sa séparation, lors de sa chromatographie.

La présence d'impuretés dans la fraction du HMF se fait remarquer par une modification du maximum de l'absorption qui est élargi ou légèrement déplacé vers des longueurs d'onde plus courtes ; ce facteur de perturbation intervient surtout dans le cas des amidons à faibles teneurs en eau contenant davantage de produits de dégradation. Bien que les résultats soient reproductibles dans les limites de ± 5 p. 100, les vraies valeurs sont donc probablement inférieures aux valeurs obtenues, en particulier pour les amidons irradiés à faible teneur en eau.

Le HMF servant comme substance témoin a été préparé selon les indications de HAWORTH (1944).

Caractérisation du produit « P »

Présente en quantité relativement importante, dans l'extrait méthanolique de l'amidon irradié, la substance est caractérisée par sa position sur le chromatogramme, par rapport au glucose R_G , par ses réactions avec différents réactifs de révélation, ainsi que par son spectre UV.

2. — Résultats obtenus.

2I. — CARACTÉRISATION GLOBALE

Les résultats sont indiqués dans le tableau 3 et les figures 3, 4 et 5 :

- solubilités dans l'eau et dans le méthanol à 90 p. 100 à 20°C, exprimées en poids de substance soluble par rapport au poids de substance sèche ;
- densité optique à 262 m μ de la solution aqueuse à 0,2 p. 100 d'amidon ;
- DP moyen déterminé par une méthode indirecte basée sur la viscosimétrie ;
- teneurs en groupements aldéhydiques, carbonyles et acides « libres », exprimées en mol p. 100 résidus glucose ;
- teneur en produits « non glucidiques » (ne réagissant pas à l'anthrone), exprimée en résidus glucose p. 100 ;
- pourcentage de résidus glucose modifiés (valeur corrigée par rapport aux produits d'inversion du glucose formés au cours du dosage.).

Aspect, solubilité dans l'eau

Au moment de l'ouverture des ampoules scellées, nous avons observé pour tous les échantillons irradiés, l'existence d'une pression de gaz assez importante.

Tous les produits étaient colorés, l'intensité de la coloration diminuant en fonction de la teneur en eau présente pendant l'irradiation : l'amidon à 0,8 p. 100 d'eau étant d'un jaune-brun, celui à 40 p. 100 étant à peine coloré.

Tous les échantillons donnent des solutions limpides dans l'eau à des températures situées entre 30° et 40°C, sauf le plus hydraté qui résiste davantage à l'action de l'eau, donnant des solutions légèrement opalescentes vers 50°C.

TABLEAU 3

Résultats obtenus sur l'amidon de pomme de terre irradié, à une dose de 30 Mrads, en fonction de sa teneur en eau

Teneurs en eau	Sol. dans l'eau à 20°C (% sub. sèche)	D. O. à 262 m μ d'une sol. à 0,2 %	Groupements en mol. % résidus glucose			
			Carbonyles	Aldéhydiques	Cétoniques (par diff.)	Acides
0,8	75	0,52	7,1	4,6	2,5	2,3
3,0	51	0,47	6,8	4,43	2,4	1,8
9,2	31	0,44	6,2	4,10	2,1	1,5
15,7	16	0,38	5,8	3,86	2,0	1,4
21,2	14	0,24	5,6	3,69	1,91	1,3
40,0	4	0,14	5,4	3,56	1,84	1,2
	Sol. dans le méthanol à 90(% sub. sèche)	Glucose formé (% sub. sèche)	HMF formé (% sub. sèche)	DP moyen	Prod. non glucidiques (% résidus glucose)	Rés. glucose modif. (%)
0,8	1	0,009 5	0,005	43	$6 \pm 1,5$	10 ± 1
3,0	0,7	0,009 5	0,004 7	43		
9,2	0,5	0,009 5	0,004 3	43		
15,7	0,3	0,014 0	0,002 9	43		
21,2	0,2	0,013 5	0,002 9	43		
40,0	0,5	0,12	0,002 8	81		

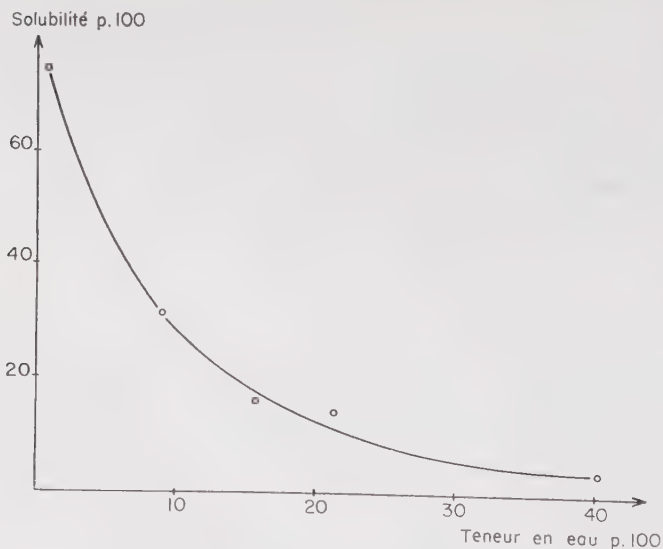


FIG. 3. — Solubilité, dans l'eau à 20°C, de l'amidon de pomme de terre irradié à 30 Mrads en fonction de la teneur en eau

Viscosité et DP moyen

La viscosité intrinsèque des solutions d'amidons irradiés à des teneurs en eau situées entre 0,8 et 21,2 p. 100 est identique dans les limites d'erreurs expérimentales :

$$(\eta) = 0,148$$

L'échantillon irradié à 40 p. 100 d'eau présente une viscosité plus élevée correspondant à :

$$(\eta) = 0,232$$

En se référant au graphique fournissant la relation entre la viscosité intrinsèque et le DP dans le cas d'amidon partiellement hydrolysé par l'acide sulfurique et l'alpha-amylase (fig. 2) on obtient :

- pour les échantillons de 0,8 à 21 p. 100 d'eau :
un DP de 43 ± 2 unités glucose ;
- pour l'échantillon à 40 p. 100 :
un DP de 81 ± 4 .

Acidité développée en milieu alcalin

Les résultats exprimés en mol. p. 100 résidus glucose, sont indiqués dans le tableau 4.

22. — ÉTUDE DE LA PARTIE MACROMOLÉCULAIRE DE L'AMIDON IRRADIÉ

Examen de l'hydrolysate acide par chromatographie sur papier

Sur le chromatogramme de l'hydrolysate de la partie macromoléculaire des différents amidons irradiés (fig. 6) apparaissent, à côté du glucose représentant la majorité des constituants, deux taches :

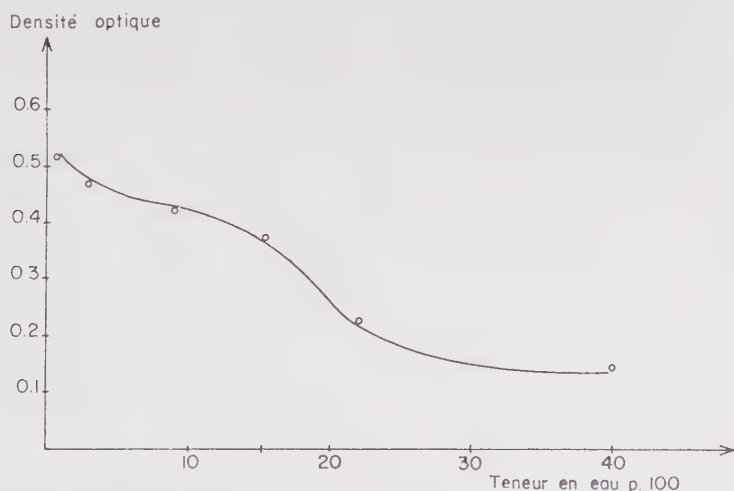


FIG. 4. — Absorption à 262 mμ, des solutions d'amidon de pomme de terre irradiées à 30 Mrads en fonction de la teneur en eau ($c = 0,2$ p. 100)

- l'une, moins mobile que le glucose, également présente dans l'hydrolysât de l'amidon non irradié, correspond à des produits d'inversion (probablement isomaltose) ;
- l'autre, plus mobile que le glucose, représentative d'une modification des unités glucose, est appelée « produit X ».

La quantité des produits d'inversion s'élève à environ 1 p. 100 ainsi que le montre le dosage du glucose présent dans l'hydrolysât de l'amidon non irradié.

La quantité du produit X n'a pu être évaluée ; d'après l'intensité des « spots » obtenus, elle est du même ordre de grandeur dans tous les échantillons quelle que soit leur teneur en eau.

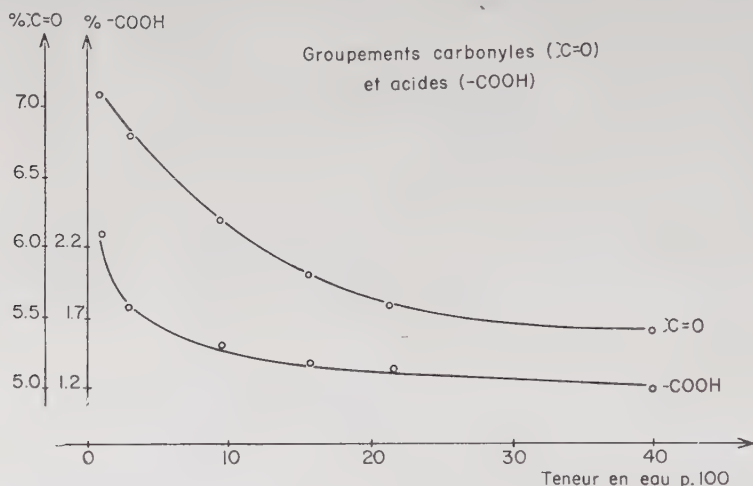


FIG. 5. — Quantité de groupements carbonyles et acides formés dans les amidons de pomme de terre irradiés à 30 Mrads en fonction de la teneur en eau

TABEAU 4
Acidité développée, p. 100 en milieu alcalin

Teneur en eau de l'amidon (%)	Temps (minutes)			
	5	25	25	60
0,8	1,8	2,1	2,1	2,8
3	2,2	2,4	2,6	3,0
9,2	2,2	2,4	2,7	3,1
15,7	2,0	2,2	2,5	2,9
40	1,8	2,0	2,3	2,7

Les réactions vis-à-vis des indicateurs de fonctions acides et carbonyles « libres » ont été négatives.

Après fractionnement d'une plus grande quantité d'hydrolysât par chromatographie préparative, la chromatographie sur papier Whatman n° 1 permet de mettre en évidence la présence de plusieurs autres substances.

Caractérisation des produits isolés

Produit X.

Cette substance présente les caractéristiques suivantes :

- sa position sur le chromatogramme par rapport au glucose, $R_G = 1,27$, dans le solvant butanol-eau/acide acétique = 4/5/1, est intermédiaire entre celle du xylose et de la glucuronolactone ou du 2-désoxyglucose (fig. 7).
- elle présente une réaction positive vis-à-vis du réactif au periodate ;

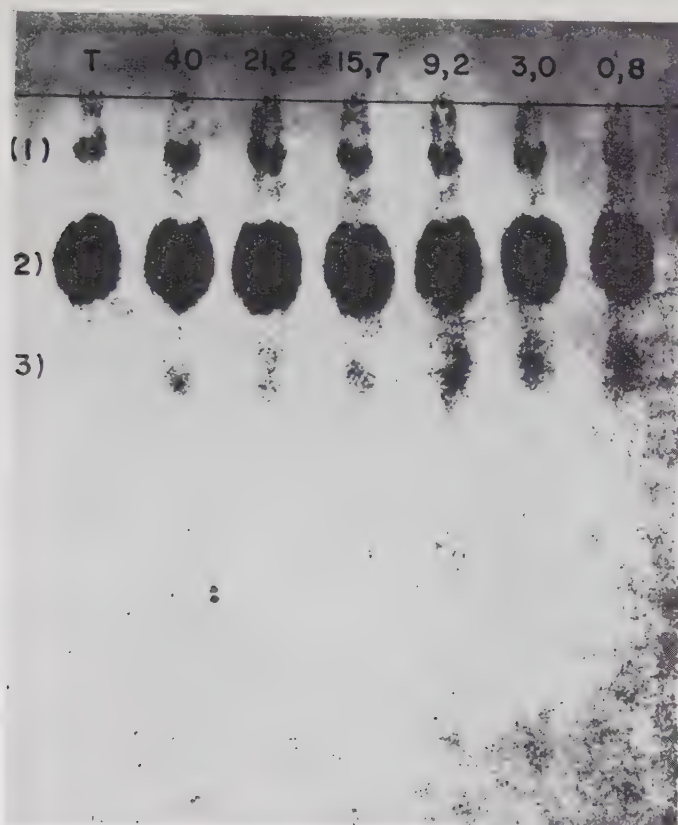


FIG. 6. — Chromatogramme de l'hydrolysât de la partie micromoléculaire des amidons irradiés à 30 Mrads en fonction de la teneur en eau : 0,8 ; 3,0 ; 9,2 ; 15,7 ; 21,2 ; 40 ; et de l'amidon non irradié T :

(1) : produits d'inversion du glucose ;

(2) : glucose ;

(3) : produit X.

Solvant : *n*-butanol eau ac. acétique 4/5/1 ;

Temps d'écoulement : 20 h.

— révélée au phtalate d'aniline, elle donne une coloration jaune-brun avec fluorescence orange en lumière ultraviolette ;

— avec le réactif à la diphénylamine, on observe une coloration gris-bleu.

La réaction avec le phtalate d'aniline est voisine de celle fournie par le 2-désoxyglucose et la glucuronolactone.

La coloration observée avec la diphénylamine n'est à notre connaissance indiquée dans la littérature pour aucune substance.

La substance ne porte pas de fonction carbonyle « libre » ; elle n'est pas non plus dérivée d'un cétose, la réaction vis-à-vis du réactif au 2,4-dinitrophénylhydrazine étant négative.

Par contre, la réduction au borohydrure de sodium aboutit à une substance de R_c pratiquement identique à celui du produit X, donnant une réaction positive au

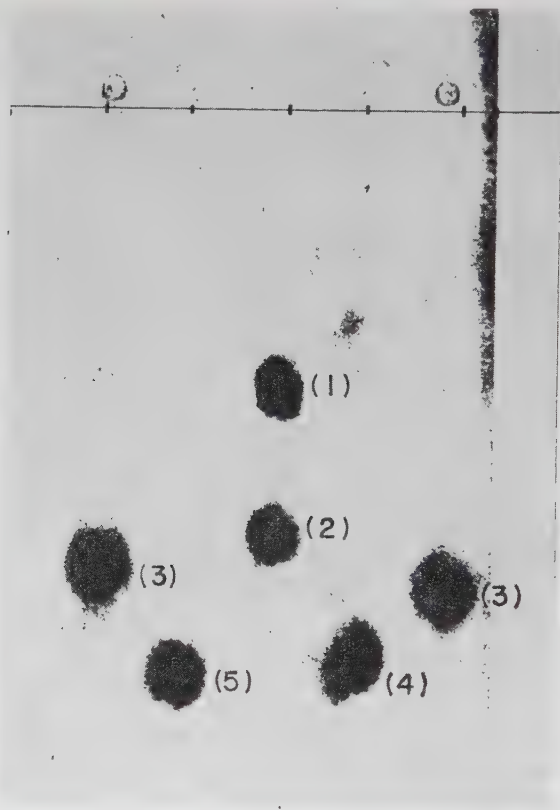


FIG. 7. — Position sur le chromatogramme du produit X (3) par rapport :

- au glucose (1),
- au xylose (2),
- à la glucuronolactone (4),
- au 2-désoxyglucose (5).

Solvant : *n*-butanol/eau ac. acétique = 4/5/1.

Temps d'écoulement : 48 h.

periodate/benzidine, mais qui ne présente plus de réaction au phtalate d'aniline. Or, cette dernière réaction est, entre autres, l'indice de la présence d'un groupement aldéhydique ou pseudoaldéhydique pour les dérivés des sucres. De plus, dans la série des sucres, les aldoses et les polyalcools correspondants ont pratiquement toujours une mobilité chromatographique presque identique. Les résultats de caractérisation

obtenus permettent ainsi de conclure que le produit X possède un groupement pseudoaldéhydique et qu'il représente vraisemblablement un aldohexose modifié.

Un essai qualitatif dans le but de localiser cette modification a été effectué par oxydation periodique. Dans des conditions expérimentales qui, dans le cas du glucose, permettent par chromatographie de mettre en évidence de l'arabinose et du glycéraldéhyde comme produits intermédiaires, le produit X fournit également un pentose (coloration rouge avec le phtalate d'aniline) différent de l'arabinose ; cependant, il ne se forme pas de glycéraldéhyde, mais deux autres produits de R_f voisins de celle-ci.

Compte tenu du fait que le squelette du glycéraldéhyde, formé à partir du glucose, est constitué des carbones 4, 5 et 6 de l'aldohexose oxydé, les observations faites permettent de préciser la structure du produit X comme suit :

Libérés par hydrolyse acide des chaînes macromoléculaires de l'amidon irradié, les groupements liés aux carbones 1 et 4 ne sont très probablement pas modifiés par rapport à ceux du glucose. L'hydroxyle du carbone 5 doit être engagé dans l'hétérocycle ; aussi une modification à son niveau est peu probable. Par contre, il est très probable qu'une modification existe en position C_6 puisqu'il n'y a pas formation de glycéraldéhyde par oxydation periodique. On ne possède aucune indication sur les modifications éventuelles portant sur les carbones 2 et 3.

Autres produits.

Deux des substances isolées par chromatographie préparative se placent respectivement au niveau de l'arabinose et du xylose. Elles donnent les réactions caractéristiques des pentoses.

Bien que, d'une façon générale, l'identification par chromatographie sur papier, ne soit pas rigoureuse, l'identité des deux composés avec l'arabinose et le xylose est très vraisemblable.

Les deux pentoses sont présents dans tous les échantillons d'amidons irradiés, quelle que soit la teneur en eau. En raison de leur faible quantité, ils n'ont pu être dosés ; en première approximation, on peut cependant estimer que dans l'amidon irradié à 40 p. 100, ils représentent une proportion plus élevée que dans les autres échantillons.

23. — ÉTUDE DES PRODUITS DE DÉGRADATION DE FAIBLE POIDS MOLÉCULAIRE

Séparation par chromatographie sur papier

La figure 8 représente le chromatogramme, révélé au phtalate d'aniline, des produits extraits, au méthanol à 90 p. 100, des différents amidons irradiés ainsi que les substances témoins glucose et HMF.

Plusieurs taches de substances apparaissent surposées à une trainée de produits mal séparés.

L'intensité de la trainée augmente au fur et à mesure que l'hydratation de l'amidon irradié diminue, tandis que la quantité des différentes substances séparées évolue dans un sens ou dans l'autre.

Étant donné la complexité du mélange, une analyse complète des produits ne peut être entreprise dans ce travail.

Trois substances, présentes dans tous les échantillons irradiés, et relativement bien séparées, sont examinées en détail :

- l'une, au niveau du glucose ;
- l'autre, au niveau du HMF ;
- la troisième, le produit P. légèrement moins mobile que le HMF.

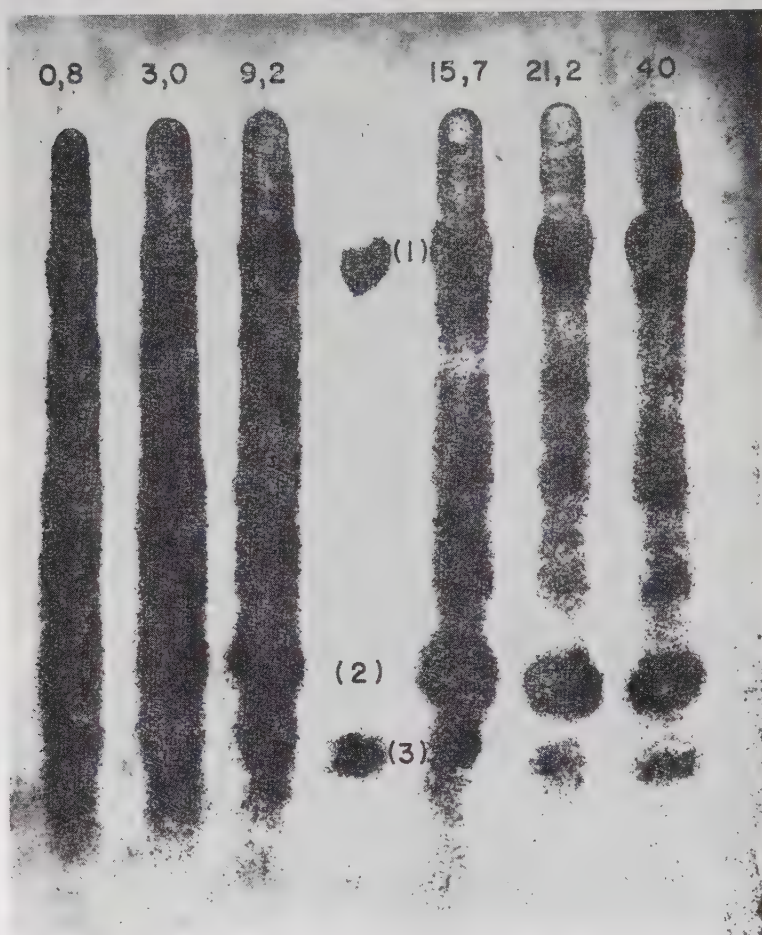


FIG. 8. — Chromatogramme de l'extrait méthanolique des amidons irradiés à 30 Mrads en fonction de la teneur en eau :

0,8 ; 3,0 ; 9,2 ; 15,7 ; 21,2 ; 40.

R = substances de référence (glucose-hydroxyméthylfurfural).

Positions : (1) du glucose,

(2) du produit P,

(3) du 5-hydroxyméthylfurfural.

Solvant : *n*-butanol/eau/ac. acétique = 4/5/1 ;

Temps d'écoulement : 20 h.

Identification et dosage du glucose

L'identité, avec le glucose, de la substance présentant un $R_G = 1$, est confirmée par sa réaction positive vis-à-vis de la glucose-oxydase. Les résultats de son dosage, en fonction de la teneur en eau de l'amidon irradié, sont indiqués dans le tableau 3.

Identification et dosage du HMF

Identification.

La substance qui se place sur le chromatogramme au niveau du HMF donne une coloration rouge brique avec le réactif à la naphtorésorcine et une coloration orange avec le phtalate d'aniline à température ambiante, caractéristique que seul, à notre connaissance, le HMF est susceptible de présenter à la fois.

Le spectre UV de la substance éluée à partir du chromatogramme montre un maximum d'absorption à $280\text{ m}\mu$ très voisin de celui du HMF ($281\text{ m}\mu$) ; l'allure de la courbe d'absorption est cependant plus ou moins modifiée par la présence d'impuretés non séparées (fig. 9).

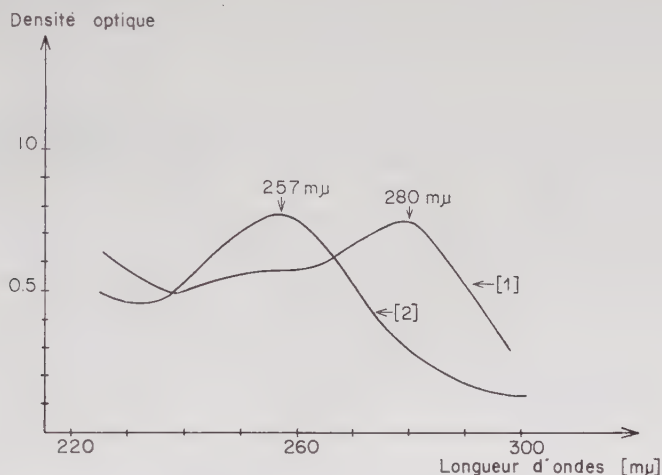


FIG. 9. — Courbes d'absorption dans l'UV, des fractions « HMF » (1) et « P » (2).

En outre, des quantités de la substance séparée et du HMF témoin, équivalentes vis-à-vis de l'intensité de leur coloration à la naphtorésorcine sur le chromatogramme donnent sensiblement la même absorption à $281\text{ m}\mu$.

Ces résultats, venant confirmer les réactions de caractérisation précédente nous semblent démontrer la présence de HMF.

Dosage.

Les résultats du dosage du HMF dans les échantillons d'amidons irradiés sont indiqués dans le tableau 3.

Caractérisation du produit P

La substance donne :

- une coloration jaune-vert avec le phtalate d'aniline,
- une coloration bleu-vert avec la naphtorésorcine.

Le spectre du produit élué du chromatogramme présente un maximum à $257\text{ m}\mu$ (fig. 9). En milieu alcalin, l'absorption diminue, le maximum disparaît, le phénomène n'est pas réversible par réacidification du milieu, ce qui indique une transformation du produit sous l'action des alcalis.

3. — Discussion et interprétation des résultats

3I. — DISCUSSION D'ENSEMBLE

Globalement, les résultats obtenus indiquent que l'action des radiations gamma sur l'amidon conduit à la dégradation des chaînes polyosidiques accompagnée de modifications d'unités glucose qui comprendraient :

- des réactions d'oxydation, aboutissant à la formation de groupements carbonyles et acides ;
- des réactions de déshydratation, dont témoigne la présence de l'hydroxyméthylfurfural ;
- des ruptures de liaisons C—C avec formation de gaz et de pentoses par exemple.

Dans le domaine d'hydratation étudié, la présence de l'eau au cours de l'irradiation se manifeste, en première approximation, de trois façons différentes suivant les caractéristiques étudiées :

Dans un premier cas, l'intensité des effets induits varie dans le même sens pour des teneurs en eau croissantes ; cette variation est continue pour :

- la solubilité dans l'eau à 20°C ;
- la densité optique à 262 m μ des solutions à 0,2 p. 100 d'amidon ;
- le pourcentage des groupements carbonyles, aldéhydes et acides formés ; elle est discontinue pour :
- le nombre de rupture de chaînes (DP moyen) ;
- les quantités de glucose et de HMF formées.

Dans le second cas, la variation de l'effet induit passe par un minimum :

- solubilité dans le méthanol à 90 p. 100.

Dans le troisième cas, les effets induits restent indépendants de la teneur en eau :

- nombre d'unités glucose modifiées ;
- pourcentage de produits « non glucidiques » formés.

Nous nous proposons d'interpréter nos résultats en fonction de deux aspects :

- la dégradation des chaînes polyosidiques ;
- les modifications des unités glucose.

La dégradation des chaînes polyosidiques

Conclusions à partir des résultats de la solubilité de l'amidon irradié, dans l'eau à 20°C.

La solubilité partielle de l'amidon irradié, dans l'eau à 20°C, constitue une manifestation nette de sa dégradation. Mesurée en fonction de la teneur en eau présente au cours de l'irradiation, elle permet en outre de constater une influence profonde de l'eau sur les réactions impliquées dans la désorganisation de la structure physico-chimique du grain d'amidon. Comme l'indique la variation du pourcentage de produits solubles qui passe de 75 p. 100 à 4 p. 100 dans le domaine d'hydratation de

0,8 à 40 p. 100, l'eau exerce un effet « protecteur ». L'insolubilité du grain d'amidon est généralement attribuée à l'existence des caractéristiques suivantes :

- a) membranes externes et internes (GUILBOT et LEVAVASSEUR, 1959) ;
- b) degré de polymérisation très élevé de la macromolécule ramifiée d'amylopectine, principal constituant de l'amidon ;
- c) organisation d'un réseau intermoléculaire, assurée principalement par des liaisons hydrogène.

Après irradiation à 30 Mrads, nous avons observé, pour tous les amidons examinés, une fissuration du grain au niveau du hile. En outre, les DP moyens trouvés par viscosimétrie sont de 43 pour l'amidon entre 0,8 et 20 p. 100 d'eau et de 81 pour l'amidon hydraté à 40 p. 100, valeurs qui devraient correspondre à des polyholosides facilement hydrosolubles.

Ainsi, il apparaît que, dans notre cas, le facteur déterminant pour la solubilisation dans l'eau de l'amidon est constitué par l'état d'organisation physico-chimique du réseau macromoléculaire. C'est, par conséquent, dans la mesure où les modifications induites par l'irradiation diminueront l'organisation intermacromoléculaire, que la solubilité sera augmentée. Le raccourcissement des chaînes macromoléculaires, entraînant une diminution du nombre de liaisons interchaînes par macromolécule, constitue un premier facteur contribuant à la désagrégation de la structure physico-chimique du grain d'amidon. Cependant, bien que le nombre de ruptures de chaînes reste le même, les amidons irradiés à des teneurs en eau entre 0,8 et 21 p. 100 présentent une variation de leurs solubilités dans l'eau qui passe de 75 à 14 p. 100 ; il s'ensuit que l'affaiblissement du réseau intermoléculaire n'est pas simplement lié au raccourcissement des chaînes macromoléculaires.

Une explication partielle de cette variation de la solubilisation peut être recherchée dans l'accroissement du nombre de groupements $\text{>C} - \text{OH}$ modifiés chimiquement dans l'amidon. En effet, la substitution des groupements $\text{>C} - \text{OH}$ par des groupements $\text{>C} = \text{O}$, par exemple, diminue le nombre et l'importance des liaisons hydrogène, la présence d'un atome H fixé à un atome fortement électronégatif (l'oxygène par exemple) étant essentielle pour la formation d'une liaison hydrogène. Or le pourcentage de groupement $\text{>C} = \text{O}$ passe de 5,6 à 7,1 p. 100 dans le domaine d'hydratation de 8,0 à 21 p. 100.

Il nous semble cependant que l'effet le plus important intervenant dans la diminution de la solubilité de l'amidon, en fonction de sa teneur en eau, soit de nature physique. En effet, la solubilité diminue brusquement de 25 p. 100 en valeur absolue, lorsque la teneur en eau passe de 0,8 à 3 p. 100. Or, on a pu montrer que dans ce domaine d'hydratation, l'état d'organisation de la structure du grain d'amidon est encore incomplète. On pourrait ainsi émettre l'hypothèse, qu'après irradiation, l'amidon, initialement « amorphe », n'est plus apte à se réorganiser au contact de l'eau.

Conclusions à partir des résultats de la solubilité dans le méthanol à 90 p. 100.

Contrairement à la solubilité dans l'eau à 20°C, qui reflète l'état de désagrégation du grain d'amidon, la solubilité dans le méthanol mesure la quantité des produits de

dégradation de faible poids moléculaire ($DP < 10$ unités glucose) (fraction M). Les deux caractéristiques suivent la même allure jusqu'à une teneur en eau de 21,2 p. 100, la fraction soluble allant en diminuant.

Cependant, dans le domaine d'hydratation entre 21 et 40 p. 100, l'évolution des deux caractéristiques se distingue, la fraction M s'accroissant.

Si l'on admet qu'entre 0,8 et 21 p. 100, l'action des radiations est statistique, compte tenu du DP moyen mesuré et des faibles quantités de « produit de dégradation » formées — de l'ordre de 0,5 p. 100 — cette action est sûrement moins statistique à une hydratation de 40 p. 100, puisque, pour un DP plus élevé, la teneur en fraction M est sensiblement plus grande qu'à une hydratation de 21,2 p. 100.

D'une façon plus précise, on observe la diminution de la fraction M pour des amidons à des teneurs en eau croissantes jusqu'à 21,2 p. 100, sans doute en raison de la présence dans l'amidon peu hydraté d'un nombre de groupements carbonyles plus élevé.

Par contre, l'augmentation de cette fraction avec l'amidon à 40 p. 100 d'eau doit être recherchée dans l'existence de réactions spécifiques en cours d'irradiation.

Ces déductions sont confirmées par le calcul de la part que représente le glucose dans la fraction M. Pour les différents amidons examinés, ces chiffres sont indiqués dans le tableau 5.

TABLEAU 5

Teneurs en eau de l'amidon (%)	Glucose dans la fraction M (%)
0,8	0,95
3	1,35
9,2	1,75
15,7	4,5
21,2	7
40	24

Pour des amidons présentant des teneurs en eau jusqu'à 21,2 p. 100 et surtout jusqu'à 9,2 p. 100, la contribution du glucose à la fraction M est, en première approximation, compatible avec une répartition statistique des produits de dégradation, indiquant une action directe des radiations sur l'amidon. Sa proportion élevée (24 p. 100), dans la fraction M de l'amidon irradié à 40 p. 100 d'eau, montre que les réactions spécifiques constatées consistent principalement dans la libération préférentielle du glucose qui s'effectue, sans doute, par intervention de l'eau, sur les résidus glucose terminaux des chaînes ; les réactions induites rappellent ainsi le mode d'action des acides sur l'amidon.

Calcul statistique de la quantité de glucose formé pour un nombre donné de scissions hydrolytiques.

La comparaison des quantités de glucose dosées avec celles calculées à partir des données statistiques, en admettant que toutes les ruptures de chaînes s'effectuent

par voie hydrolytique, va nous permettre d'obtenir des renseignements supplémentaires quant à l'importance des scissions « hydrolytiques » par rapport à d'autres types de scission.

Dans la discussion qui va suivre, le terme scission « hydrolytique » désigne un mode de ruptures de chaînes polyosidiques faisant intervenir les radicaux H et OH, sans préjuger de l'intervention éventuelle des molécules d'eau d'hydratation.

Nous nous référons au calcul effectué par KUHN (1930) dans le cas de l'hydrolyse acide de la cellulose.

Soit une chaîne de $N + 1$ unités, N représentant le nombre de liaisons. Si r liaisons sont rompues, le degré de dégradation est égal à :

$$a = \frac{r}{N}$$

La probabilité d'obtention d'un fragment à n unités est égale au produit des probabilités pour que, par exemple, les q -ièmes et $q + (n - 1)$ -ièmes liaisons ne soient pas rompues.

La probabilité de rupture d'une liaison est égale au rapport (a) des liaisons présentes aux liaisons rompues, la probabilité de non rupture est égale à $(1 - a)$. La probabilité d'obtention d'un fragment à n unités est donc :

$$P = a^2 (1 - a)^{n-1}$$

Le nombre de tels fragments, qui peuvent se former à partir d'une chaîne à $N + 1$ unités, est égal à la somme des fragments que l'on obtient en faisant varier q entre 0 et $N (N + 1 - n)$.

$$A = (N + 1 - n)a^2 (1 - a)^{n-1}$$

Le rendement en fragments à n unités par rapport à une rupture uniforme de la chaîne est égal à :

$$R = \frac{A}{N} = \frac{n}{N} (N + 1 - n)a^2 (1 - a)^{n-1}$$

Comme n est, en général, négligeable devant N , la formule se simplifie, soit :

$$R = na^2 (1 - a)^{n-1}$$

Dans le cas du rendement en glucose, $n = 1$, on a :

$$R = a^2$$

Cette formule est valable pour des chaînes très longues, la contribution des unités terminales au rendement étant négligée. Dans le cas de l'amidon, en raison des nombreuses ramifications de l'amylopectine, la formation de glucose à partir des unités glucose terminales, représentant un pourcentage de 4 p. 100, doit être considérée.

Comme dans la formation du glucose à partir de l'extrémité d'une chaîne polyosidique, une seule liaison est rompue, son rendement est égal à :

$$R = a$$

Négligeant dans le calcul la formation du glucose à partir des résidus glucose ramifiés dont la libération demande la rupture de trois liaisons, le rendement en glucose résultant d'une hydrolyse de l'amidon de pomme de terre se calculera ainsi en bonne approximation d'après l'expression suivante :

$$R = \frac{4}{100} a + \frac{96}{100} a^2$$

Le degré de dégradation (a) est déterminé par les DP moyens initial $N + 1$ et final $N_1 + 1$:

$$a = \frac{1}{N} = \frac{\frac{N - N_1}{N_1 + 1}}{N} = \frac{N - N_1}{(N_1 + 1) N}$$

Si le DP final N_1 peut être négligé devant N , on a :

$$a = \frac{1}{N_1 + 1}$$

Dans le cas des amidons irradiés à des teneurs en eau allant jusqu'à 21,2 p. 100, le DP mesuré est égal à 43. En admettant un DP initial de 1 000, la quantité de glucose libéré serait de :

$$\begin{aligned} R &= \frac{4}{100} \cdot \frac{999 - 42}{43 \cdot 1000} + \frac{96}{100} \left(\frac{999 - 42}{43 \cdot 1000} \right)^2 \\ R &= 0,00088 + 0,00047 \\ R &\neq 0,13 \text{ p. } 100. \end{aligned}$$

En admettant un DP initial infini, le rendement en glucose serait :

$$\begin{aligned} R &= \frac{4}{100} \cdot \frac{1}{43} + \frac{96}{100} \left(\frac{1}{43} \right)^2 \\ R &\neq 0,144 \text{ p. } 100 \end{aligned}$$

Les quantités de glucose formé dans les amidons irradiés sont de :

0,0095 p. 100 à des teneurs en eau de 0,8-3 et 9,2 p. 100 ;

0,0135 p. 100 à des teneurs en eau de 15,7 et 21,2 p. 100.

Le calcul effectué montre donc que la scission « hydrolytique » n'est pas le seul mode de rupture de chaînes, le rendement étant environ dix fois plus faible que dans le cas d'une hydrolyse. En outre, le résultat reste compatible avec un mode de dégradation statistique.

Par contre, dans le cas de l'amidon irradié à 40 p. 100 d'eau, la quantité de glucose calculée :

$$\begin{aligned} R &= \frac{4}{100} \cdot \frac{1}{80} + \frac{96}{100} \left(\frac{1}{80} \right)^2 \\ R &\neq 0,065 \text{ p. } 100 \end{aligned}$$

est inférieure à celle trouvée expérimentalement : 0,12 p. 100.

La formation du glucose doit donc s'effectuer par des réactions spécifiques. Ce résultat rejoint ainsi nos précédentes déductions.

Modes possibles de ruptures de chaînes.

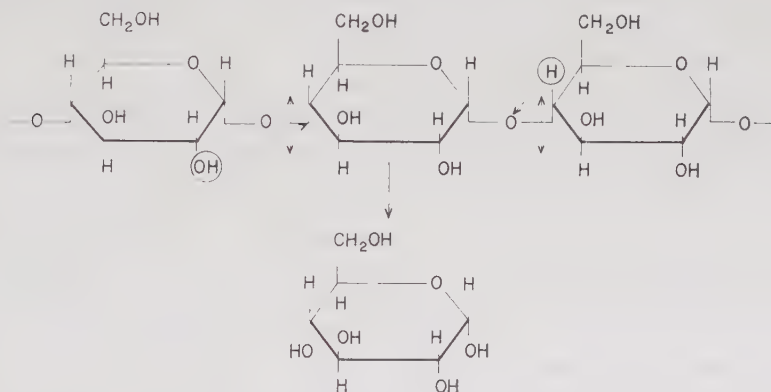
D'une façon générale, les substances présentes dans la fraction soluble dans le méthanol peuvent être considérées comme les témoins types de dégradation des chaînes macromoléculaires, dans la mesure où elles résultent d'une scission directe ; elles peuvent ainsi fournir des indications sur les mécanismes des réactions de dégradation.

Parmi les produits de dégradation de l'amidon irradié en fonction de la teneur en eau, le glucose et l'hydroxyméthylfurfural ont été identifiés ; leurs proportions respectives et leur évolution permettent de penser qu'ils représentent de tels témoins. La réaction de dégradation indiquée par la présence du glucose est caractérisée comme suit : elle se produit au niveau de la liaison glucosidique ; elle fait intervenir les radicaux H et OH.

Ces radicaux peuvent avoir deux origines :

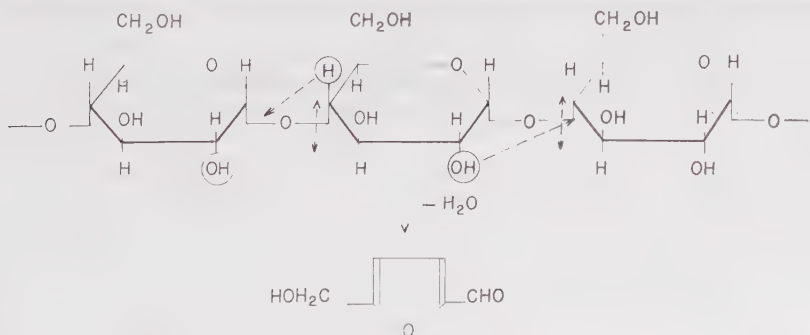
- les molécules d'eau présentes dans le milieu ;
- les groupements H et OH des unités glucose voisines de l'unité détachée.

Dans le deuxième cas, chaque scission, entraîne ainsi la modification d'une unité glucose, selon le schéma suivant, par exemple :



Les modifications ainsi produites peuvent aboutir à la formation d'une double liaison ou à un résidu glucose déshydraté.

Le HMF constituant un dérivé de déshydratation du glucose est en rapport avec la scission des liaisons glucosidiques. Un résidu du glucose détaché de la chaîne polyosidique par la rupture « hydrolytique » de deux liaisons glucosidiques voisines pourrait se stabiliser par élimination d'une autre molécule d'eau en formant du HMF (voir schéma) :



Ce mode de dégradation permettrait d'expliquer une partie de la différence observée entre le rendement en glucose calculé statistiquement dans le cas d'une hydrolyse et les teneurs en glucose mesurées pour les amidons irradiés à des hydratations situées entre 0,8 et 21,2 p. 100.

On peut également formuler l'hypothèse que le produit P, présent en quantité relativement grande dans la fraction M, constitue le témoignage d'un autre type de dégradation.

Les modifications des résidus glucose

Le nombre de résidus glucose « modifiés » dans l'amidon irradié à 30 Mrads est de 10 ± 1 p. 100, dont environ 6 ne fournissent plus de dérivés furfuryliques détectables par le dosage à l'anthrone.

Plusieurs types de modifications ont été mis en évidence : la grande majorité d'entre elles consiste en réactions d'oxydation aboutissant à la formation :

- de groupements carbonyles dont le pourcentage varie entre 5,4 et 7,1 p. 100 ;
- de groupements acides dont la teneur passe de 1,2 à 2,3 p. 100 en fonction de l'hydratation croissante, pour l'amidon irradié à des teneurs en eau entre 0,8 et 40 p. 100.

La présence de HMF dans l'amidon irradié témoigne d'une modification suivant des réactions de déshydratation.

Des ruptures de liaisons C—C sont indiquées par la formation de pentoses et de produits gazeux.

L'oxydation des résidus glucose peut s'effectuer par déshydrogénation, par fixation d'oxygène ou oxydo-réduction interne. Compte tenu des conditions d'irradiation en ampoules scellées, dans lesquelles la teneur en oxygène était de l'ordre de 1 atome pour 100 résidus glucose, il est clair que l'oxydation par fixation d'oxygène ne peut intervenir que dans une faible proportion.

Comme le nombre de résidus glucose modifiés reste identique dans le domaine d'hydratation étudié, l'évolution du nombre de groupements carbonyles et acides en fonction de la teneur en eau permet de penser qu'au fur et à mesure que l'hydratation diminue les unités glucose sont oxydées à un degré plus élevé ; c'est-à-dire qu'une interaction des radiations avec une unité glucose conduit à des réactions d'oxydation plus importantes. En calculant le DP moyen des amidons irradiés à partir du nombre de groupements aldéhydiques, déterminé par la méthode au chlorite, on obtient alors des valeurs situées entre 21,7 et 28 au lieu de 43 et 81 trouvées par viscosimétrie. Cette observation indique l'existence de plus d'un groupement aldéhydique par chaîne macromoléculaire ; elle montre ainsi l'impossibilité d'utiliser les résultats du dosage des groupements aldéhydiques pour la détermination du DP moyen d'un amidon irradié.

Les faibles teneurs des amidons irradiés en produits solubles dans le méthanol à 90 p. 100 indiquent que la majeure partie des résidus glucose modifiés se trouve dans la fraction macromoléculaire. Les études effectuées sur cette dernière fraction, pour caractériser, après hydrolyse, les résidus glucose modifiés n'ont pas permis de mettre en évidence des composés à fonction carbonyles et acides. Leur examen à l'aide de techniques adaptées à leur labilité apparente n'a pas été abordé dans ce travail.

Un type de modification important semble être lié à la structure du produit X, compte tenu des quantités observées après chromatographie sur papier.

Seuls l'arabinose et le xylose ont été identifiés. Étant donné les faibles quantités qui ont pu être décelées, nous n'avons pas formulé d'hypothèses sur leurs modes de formation d'autant plus qu'il n'a pas été possible de déterminer, si elle est impliquée ou non dans les réactions de dégradation.

32. — CONFRONTATION AVEC LES RÉSULTATS DES TRAVAUX ANTÉRIEURS

Dans l'étude, effectuée par EHRENBURG (1957), concernant l'influence de la teneur en eau sur les modifications induites par les radiations gamma dans l'amidon et ses constituants, aucun échantillon n'a été examiné à des teneurs en eau inférieures à 6 p. 100. Comme le montrent nos résultats, c'est précisément dans la zone de très faible hydratation que les variations des effets induits, avec la teneur en eau, sont les plus importants.

EHRENBURG a trouvé une diminution du nombre de ruptures de chaînes au fur et à mesure de l'accroissement de l'hydratation entre 6,6 et 20 p. 100. Nos résultats sur l'amidon de pomme de terre indiquent au contraire que ce nombre est indépendant de la teneur en eau dans les mêmes limites d'hydratation. Il n'est pas possible de déterminer les raisons de ce désaccord, du fait que le matériel utilisé, les conditions d'irradiation, et les méthodes de détection utilisées sont différents. Il y a lieu cependant de remarquer que : d'une part, dans les cas de l'amidon et de l'amylopectine, les doses d'irradiation utilisées par EHRENBURG étaient beaucoup plus faibles que les nôtres (0,5 Mrads contre 30 Mrads) ; d'autre part, pour l'amylose, le mode d'évaluation par examen de la coloration à l'iode risque d'être plus sensible à l'influence des modifications des résidus glucose que la méthode viscosimétrique.

Les groupements aldéhydiques n'ont été dosés par aucun des précédents auteurs.

Le nombre de groupements carbonyles déterminés par NIKUNI (1960), d'après la méthode à l'hydroxylamine, pour des amidons à une teneur en eau de 18,5 p. 100, est de 5,0 p. 100 à une dose de 30 Mrads (valeur obtenue par interpolation). La méthode au borohydrure nous a fourni des valeurs situées entre 5,8 et 5,6 p. 100 pour des amidons irradiés respectivement à une teneur en eau de 15,7 et 21,2 p. 100, à la même dose.

Nos résultats du dosage des fonctions acides sont voisins de ceux des précédents auteurs.

Le glucose libéré, par irradiation à 60 Mr d'un amidon à 18,5 p. 100, a été estimé par NIKUNI, après chromatographie sur échangeurs d'ions sous forme borate, à 0,05 p. 100, valeur compatible avec l'ordre de grandeur de celle que nous avons trouvé (0,014 p. 100 pour un amidon à 21,2 p. 100 d'eau) compte tenu de la dose d'irradiation deux fois plus faible.

Il est à remarquer que la valeur trouvée par NIKUNI pour la quantité de maltose libéré représente sensiblement le double de celle du glucose, rapport qui correspond à celui d'un processus statistique de ruptures de chaînes.

L'arabinose a été identifié comme produit de dégradation, par NIKUNI, après irradiation de l'amidon à 60 Mr ; il a été mis en évidence dans les produits d'hydrolyse de l'amidon irradié par WOLFROM (1962), ce qui confirme nos résultats.

Les autres déterminations effectuées au cours de cette étude n'ont pas fait l'objet de travaux antérieurs ; notamment il n'existe pas d'indications sur la présence de l'HMF, ni sur la formation au cours de l'hydrolyse de l'amidon irradié d'une substance ayant les propriétés du produit X. Cependant, il est intéressant de noter que WOLFROM indique la présence de 1,6-anhydroglucose dans les produits de dégradation.

33. — HYPOTHÈSES CONCERNANT LE MODE D'ACTION DES RADIATIONS GAMMA SUR L'AMIDON EN FONCTION DE SA TENEUR EN EAU

En général, les effets finaux observés après irradiation d'un système binaire sont différents de la somme des effets obtenus par irradiation des composants. Ils constituent plutôt la résultante de l'action directe et de diverses interactions, de nature physique et chimique, entre les molécules activées et neutres des constituants.

Les interactions physiques, se plaçant avant l'étape des réactions chimiques, consistent, par exemple, en une action des molécules neutres d'un constituant sur les molécules activées de l'autre ; elles aboutissent ainsi soit à un effet de sensibilisation soit à un effet de protection, suivant que l'énergie d'activation du constituant considéré se trouve augmentée ou diminuée.

En ce qui concerne les interactions chimiques, on peut distinguer deux types d'actions.

Pour le système amidon-eau, on aurait :

- une action « secondaire », dans le cas d'une réaction d'un radical polyosidique avec les molécules ou les radicaux de l'eau ;
- une action « indirecte », dans le cas d'une réaction entre les radicaux de l'eau et une chaîne polyosidique neutre de l'amidon.

A l'aide de ces considérations, nous allons essayer d'interpréter l'évolution des différentes caractéristiques de l'amidon irradié, étudiées en fonction de sa teneur en eau entre 0,8 et 40 p. 100.

La constance du nombre de ruptures de chaînes de l'amidon irradié à des teneurs en eau situées entre 0,8 et 21 p. 100 indique clairement que les scissions de chaînes résultent d'une action directe des radiations ; cependant, des réactions « secondaires » entre les fragments obtenus et les radicaux ou molécules d'eau ne peuvent pas être exclues. A une hydratation de 40 p. 100 environ, la moitié des réactions de ruptures de chaînes ne se produisent plus : l'eau exerce un effet de « protection ». Le même effet est observé dans tout le domaine d'hydratation étudié, dans le cas de la formation des groupements carbonyles et acides ; la variation de l'effet étant d'autant plus marquée que l'hydratation est plus faible et suivant, en première approximation, l'évolution de la chaleur d'hydratation (SCHIERBAUM et TAUFEL, 1962).

Étant donné que la zone d'hydratation jusqu'à environ 10 p. 100 est caractérisée par l'existence de fortes liaisons hydrogène entre l'eau et l'amidon, il nous semble que l'effet de protection diminuant le nombre des réactions d'oxydation doit, en grande partie, être attribué à la présence de ces liaisons :

- d'une part, de l'énergie serait consommée dans la rupture des liaisons hydrogène ;
- d'autre part, un transfert d'énergie des unités glucose activées aux molécules d'eau serait possible par l'intermédiaire des liaisons existantes entre elles.

Dans la zone des plus fortes hydratations, on peut invoquer en outre, et plus spécialement pour les réactions de ruptures de chaînes, un effet protecteur de l'eau dû à l'augmentation de mobilité des constituants du milieu au fur et à mesure de l'hydratation ; cet accroissement de mobilité favoriserait la recombinaison des radicaux formés.

Le fait que, dans la zone d'hydratation allant jusqu'à 21 p. 100, le nombre de ruptures de chaînes apparaisse indépendant de la teneur en eau, nous permet d'admettre que ces réactions se produisent sur des points non « protégés » par des liaisons hydrogène. Or, il a été montré (GUILBOT et DRAPRON, 1950-1957), que l'atome d'oxygène de la liaison glucosidique n'intervient pratiquement pas dans la fixation des molécules d'eau.

Ne tenant compte que des forces des liaisons intramoléculaires, on pourrait prévoir que les réactions de ruptures de chaînes se produisent au niveau de la liaison glucosidique à une fréquence environ deux fois plus élevée qu'au niveau du cycle pyranique, étant donné que, dans ce dernier cas, deux liaisons doivent être rompues. Contrairement à cette probabilité statistique, nos résultats semblent ainsi nous habilitier à émettre l'hypothèse que, sous influence des liaisons hydrogène, les réactions de ruptures de chaîne se produisent en totalité au niveau de la liaison glucosidique.

L'évolution de la quantité de glucose libéré par irradiation de l'amidon en fonction de sa teneur en eau est particulièrement intéressante à suivre. La constance de la quantité de glucose libéré jusqu'à une teneur en eau d'au moins 9,2 p. 100 permet d'estimer que, dans cette zone, l'eau n'intervient pas dans la réaction de formation du glucose.

En effet, si les molécules d'eau intervenaient par action « secondaire » ou action « indirecte », on devrait s'attendre à un accroissement de la quantité de glucose formé en fonction de l'hydratation. Du fait que la formation du glucose par l'intermédiaire d'un radical n'est possible qu'à condition que les molécules ou les radicaux de l'eau interviennent, il nous semble justifié d'admettre que le glucose résulte d'une décomposition intramoléculaire d'un résidu glucose activé. Un tel mécanisme de réaction a été mis en évidence dans le cas de certains éthers (NEWTON, 1957). On aurait le schéma suivant :



Au-delà de 9,2 p. 100 d'eau, la quantité de glucose libéré augmente et dans la zone de 15,7 à 21,2 p. 100 d'eau, elle atteint un nouveau palier dont la valeur est d'environ 50 p. 100 supérieure à celle de la première zone.

Comme le nombre de ruptures de chaîne reste identique, la formation du supplément de glucose dosé doit être attribuée à l'intervention de l'eau. Les expériences effectuées ne permettent pas de préciser si l'évolution de la quantité de glucose formé entre les hydratations de 9,2 à 15,7 p. 100 est continue ou discontinue. Cependant, le fait que son augmentation ne se poursuit pas entre 15,7 et 21,2 p. 100 d'eau, indique que la fraction d'eau de sorption qui est intervenue présente des caractéristiques particulières. Il est intéressant de noter que, dans la même zone d'hydratation, la quantité de HMF formée diminue d'environ 50 p. 100 par rapport à celle de la première zone.

Dans le cas de l'amidon irradié à 40 p. 100 d'eau, la quantité de glucose formée étant environ 10 fois plus élevée pour un nombre de ruptures de chaînes deux fois

plus faible que pour les teneurs en eau précédentes, il convient d'admettre qu'il est libéré par action indirecte des radicaux de l'eau sur les macromolécules de l'amidon.

La teneur en eau limite correspondant à l'apparition de l'eau « libre » dans le système amidon-eau étant voisine de 33 p. 100, ces résultats montrent que l'action indirecte des radicaux d'eau sur l'amidon ne se produit qu'en présence d'eau ayant un degré de liberté voisin de celui de l'eau « libre ».

Concernant l'état de fixation de l'eau dans l'amidon, nos conclusions peuvent être résumées comme suit :

Interprété sur la base d'un transfert d'énergie par l'intermédiaire de liaisons hydrogène, l'effet de protection, constaté dans le cas des réactions d'oxydation, semble mettre en évidence une gamme continue et décroissante de forces de fixation de l'eau. Par contre, l'évolution par palier de la quantité de glucose formée indique la présence dans l'amidon hydraté d'états spécifiques de l'eau dont les points de transitions correspondent en première approximation à ceux trouvés par plusieurs méthodes d'investigation de l'état de l'eau : environ 10 p. 100 et environ 33 p. 100.

Il paraît ainsi que l'effet de protection, d'autant plus marqué que les liaisons hydrogène sont plus fortes, ne permet pas de distinguer les différents états de l'eau dans l'amidon, mis en évidence par l'évolution de la libération du glucose, qui, contrairement à l'effet de protection, se manifeste en fonction de la mobilité croissante de l'eau dans l'amidon.

4. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

L'action des radiations gamma sur l'amidon conduit à une dégradation des chaînes polysidiques, avec, en particulier, formation de produits d'oxydation et de déshydratation.

La présence de l'eau se manifeste, dans différentes réactions étudiées, comme suit :

1° Le nombre des réactions d'oxydation diminue ;

2° Le nombre de ruptures de chaîne reste constant jusqu'à une teneur en eau d'environ 21 p. 100 pour diminuer à partir d'une teneur en eau située entre 21 et 40 p. 100.

3° La quantité de glucose libéré augmente à partir d'une teneur en eau d'environ 9 p. 100.

On met en évidence :

— un effet de protection de l'eau sur l'amidon, dans le cas des réactions d'oxydation et des réactions de ruptures de chaînes ;

— une intervention chimique, dans le cas de la formation du glucose.

Les effets de protection ont été expliqués en admettant deux causes :

— un transfert d'énergie des unités glucose activées aux molécules d'eau se produisant par l'intermédiaire des liaisons hydrogène ;

— la recombinaison des fragments, favorisée par leur mobilité.

Le premier mode d'intervention de l'eau serait prédominant dans le cas des réactions d'oxydation, l'effet étant particulièrement marqué dans la zone des très faibles hydratations et évoluant en première approximation, parallèlement à la chaleur

d'hydratation. Par contre, la recombinaison de fragments ne deviendrait manifeste qu'à partir d'une teneur en eau supérieure à 21 p. 100. Une conséquence de ces hypothèses est que les réactions de ruptures de chaînes se produisent au niveau des points non « protégés » par des liaisons hydrogène, tels que l'oxygène de la liaison glucosidique.

La libération du glucose en fonction de la teneur en eau de l'amidon suit une courbe par paliers, les zones de transition se situant entre 5 et 15 p. 100 et entre 21 et 40 p. 100. Cette évolution permet de penser que, dans l'amidon, il existe des fractions d'eau ayant une mobilité déterminée. Les zones de transition ainsi mises en évidence sont à rapprocher des points singuliers obtenus par plusieurs méthodes d'investigation de l'état de fixation de l'eau dans l'amidon : à savoir 10 et 33 p. 100, le dernier point marquant l'apparition de l'eau « libre ».

La formation du glucose à des teneurs en eau aussi basses que 0,8 p. 100, ainsi que la présence de l'hydroxyméthylfurfural, suggèrent que des scissions hydrolytiques se produisent par voie de réactions d'élimination intramoléculaires.

Les modifications induites dans les unités glucose comprennent, entre autres, la formation d'unités arabinose et xylose, ainsi que d'un résidu (produit X) dont la structure doit être voisine de celle du glucose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BADENHUIZEN N. P., 1958. Structure, properties and growth of starch granules. In : *Handbuch für Pflanzenphysiologie*, vol. IV, 137-153-Springer Verlag, Berlin.
- BOURNE E. J., STACEY M. and VAUGHAN G., 1956. Action of X rays on dilute aqueous amylose solution. *Chem. and Ind.*, 573-4.
- CHAMPETIER G. et YOVANOVITCH O., 1952. Sur l'hydratation de l'amidon. *C. R. Acad. Sci.*, **234**, 837.
- CHARLESBY A., 1955. The degradation of cellulose by ionizing radiation. *J. Polym. Sci.*, **15**, 263-70.
- CHARLESBY A., 1960. *Atomic Radiation and polymers*, Pergamon Press.
- COURTOIS E. et GUERNET A., 1957. Recherches sur l'oxydation partielle des polyols acycliques par l'acide periodique. *Bull. Soc. Chim.*, 1388.
- DEROSIER N. W. et ROSENSTOCK H. N., 1960. *Radiation Technology in Food, Agriculture, and Biology*, The Avi Publishing Company, Inc.
- DEDONDER R., 1960. In : *Monographie de Chimie Organique*, vol II, **31**, Masson et C^{ie}.
- DRAPRON R., 1961. *Chromatographie sur papier avec gradient d'évaporation de la phase mobile*. Communication à la section de Chimie analytique de la Soc. chim. de France (janvier).
- EIHRENBURG L., JAARMA M. and ZIMMER E. C., 1957. The influence of water content on the action of ionizing radiation on starch. *Acta Chem. Scand.*, **11**, 950-56.
- GREENWOOD C. T., 1956. Aspects of the physical chemistry of starch. In : *Advances in Carbohydrate Chemistry*, vol. **11**, 336-393, Academic Press Inc., Publishers, New York, N. Y.
- GUILBOT A., CHARBONNIÈRE R., ABADIE P. et GIRARD P., 1960. L'eau de sorption de l'amidon : Étude par spectrologie hertzienne. *Die Stärke*, **12**, 327-332.
- GUILBOT A., CHARBONNIÈRE R. et DRAPON R., 1961. Sur la contribution de l'eau à l'organisation des chaînes macromoléculaires de l'amidon. *Die Stärke*, **13**, 12204-207.
- GUILBOT A. et DRAPON R., 1950-57. Travaux inédits.
- GUILBOT A. et LEVAVASSEUR G., 1959. Structure submicroscopique de l'amidon : examen des grains en coupes minces au microscope électronique, *C. R. Acad. Sci.*, **219**, 2525.
- HAISSINSKI M., 1957. *La chimie nucléaire et ses applications*. Masson et C^{ie}.
- HAWORT J., 1944. *J. Chem. Soc.*, 667.
- HOLLO J. et SZEITLI J., 1961. Studien zur Hydrolyse der Stärke. *Die Stärke*, **13**, 32-38 et 327-331.
- HUGERT A. S. et NIXON D. A., 1957. Enzymic Determination of Blood Glucose. *Biochem. J.*, **66**, 12 P.
- KEILLIN D. and HARTREE E. F., 1952. Specificity of Glucose Oxidase. *Biochem. J.*, **50** 331.
- KERTESZ Z. I., SCHULZ E. R., FOX G. et GIBSON M., 1958. Effects of ionizing radiations on plant tissues. Part. IV. Some effects of X radiations on starch and starch fractions. *Food Research*, **24**, 609-17.

- KOROTCHENKO K. A. et ORESHKO U. F., 1959. Mechanism of the action of ionizing radiation on starch. *Izvest. Uyssh. Ucheb. Zoved. Pishch. Techn.*, **5**, 29-34, in : Chem. Abst., **54**, 9 139 b (1960).
- KOROTCHENKO K. A. et ORESHKO U. F., 1960. Research on the destruction of starch under the influence of gamma radiation. *Dokl. Akad. Nauk.*, **133**, 1219-22. (Trad. angl.).
- KUHN W., 1930. Über die Kinetik des Abbaues hochmolekularer Ketten. *Ber. dtsch. Chem. Ges.*, **63**, 1503.
- LAUNER H. F. et TOMIATSU Y., 1959. Stoichiometry of Chlorite-Aldehyde Reactions. *Anal. Chem.*, **31**, 1385.
- LAUNER H. F. et TOMIATSU Y., 1961. Failure of alkaline methods to measure the degree of polymerisation of starch and polyglucosides. *Anal. Chem.*, **33**, 79-82.
- LEFORT M., 1959. *Les radiations nucléaires*. Presses Universitaires de France.
- LEGRAND CH. et YOVANOVITCH O., 1957. Étude radio-cristallographique de l'influence de l'eau sur la structure de divers amidons. *C. R. Acad. Sci.*, **245**, 1553.
- LINDBERG B. et THEANDER O., 1954. Quantitative Determination of Carbonyl Groups in Oxycellulose by Means of Sodium Borohydride. *Svensk. Papperst.*, **57**, 83.
- LOEWUS F. A., 1952. Improvement in Anthrone Method for Determination of Carbohydrates. *Anal. Chem.*, **24**, 219.
- NEWTON A. S., 1957. A survey of the radiation chemistry of some aliphatic ethers. *J. Phys. Chem.*, **61**, 1485-90.
- NIKUNI Z. and MISHINA A., 1960. The effects of gamma-rays on potato-starch. *Mem. Inst. Sci. Industr. Res., Osaka Univ.*, **17**, 215-18.
- RADLEY J. A., 1960. The effects of irradiation by high energy cathods rays on starch. *Die Stärke*, **12**, 201-3.
- SAEMANN J. F., MILLET M. A., 1952. Effect of high-energy cathode rays on Cellulose. *Ind. and Eng. Chemistry*, **44**, 2848-52.
- SAMEC M., 1959. Über lösliche Stärken, erhalten durch gamma-Strahlung. *Die Stärke*, **10**, 285.
- SAMEC M., 1960. Veränderung der Stärke unter dem Einfluss ionisierender Strahlen. *Die Stärke*, **12**, 99.
- SCHIERBAUM F. und TAUFEL L., 1962. Hydratation der Stärke. IV. Die Abhängigkeit der der Sorptionwärme der Stärke von ihrer Hydratation. *Die Stärke*, **14**, 233-8.
- ULLMANN N., 1958. Das Wasser des Stärkekornes. *Kolloidchemie makromolekularer Naturstoffe*, **18**, 81-91.
- WHELAN W. J., 1958. Starch and similar polysaccharides. In : *Handbuch für Pflanzenphysiologie*, vol. **4**, 154-240, Springer Verlag, Berlin.
- WOLFROM M. L., MC CABE L. J., MICHELAKIS A. M., BINKLEY W. W., 1962. The effects of ionizing radiations on polysaccharides ; irradiation of starch and inulin. « *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* ».
- YOVANOVITCH O., 1957. Sur l'hydratation de l'amidon de pomme de terre. *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 426.
- ZOBEL H. F., et SENTI R. F., 1960. The degree of cristallinity of starch granules as measured by X-rays diffraction. Communication présentée au 45^e Congrès de l'A. A. C. C. (mai).

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LA STRUCTURE DES ACIDES NUCLÉIQUES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 10 novembre 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Le Recteur de l'Académie de Paris,

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Jean ROCHE

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 6-11-1964.

Dépôt légal: 4^e trimestre 1964. N^o d'impression: 629.

